

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL

INTERACTION DU ZOOPLANCTON ET DU CO₂ SUR LA COMPOSITION DU
PHYTOPLANCTON ET SUR LE MAXIMUM DE CHLOROPHYLLE EN
PROFONDEUR

MÉMOIRE
PRÉSENTÉ
COMME EXIGENCE PARTIELLE
DE LA MAÎTRISE EN BIOLOGIE

PAR
CINDY PAQUETTE

MARS 2017

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL
Service des bibliothèques

Avertissement

La diffusion de ce mémoire se fait dans le respect des droits de son auteur, qui a signé le formulaire *Autorisation de reproduire et de diffuser un travail de recherche de cycles supérieurs* (SDU-522 – Rév.07-2011). Cette autorisation stipule que «conformément à l'article 11 du Règlement no 8 des études de cycles supérieurs, [l'auteur] concède à l'Université du Québec à Montréal une licence non exclusive d'utilisation et de publication de la totalité ou d'une partie importante de [son] travail de recherche pour des fins pédagogiques et non commerciales. Plus précisément, [l'auteur] autorise l'Université du Québec à Montréal à reproduire, diffuser, prêter, distribuer ou vendre des copies de [son] travail de recherche à des fins non commerciales sur quelque support que ce soit, y compris l'Internet. Cette licence et cette autorisation n'entraînent pas une renonciation de [la] part [de l'auteur] à [ses] droits moraux ni à [ses] droits de propriété intellectuelle. Sauf entente contraire, [l'auteur] conserve la liberté de diffuser et de commercialiser ou non ce travail dont [il] possède un exemplaire.»

REMERCIEMENTS

J'aimerais tout d'abord remercier ma superviseure, Beatrix Beisner, qui m'a épaulée et soutenue tout au long dans ce projet, de l'élaboration de la problématique à l'analyse des données. J'aimerais aussi la remercier particulièrement pour le soutien et le temps investit dans la rédaction de l'article. L'équipe du laboratoire de recherche du Dr. Beisner a également été d'une aide essentielle. J'aimerais remercier Nicolas Fortin St-Gelais pour son aide avec les analyses statistiques, Laurent Fraser pour ses idées et ses conseils, ainsi qu'Alexandre Langlais-Bourassa pour son enthousiasme et sa motivation. J'aimerais également remercier Barnabé Kiepura et Evick Mestre pour leur assistance sur le terrain et en laboratoire. Katherine Velghe a aussi apporté une aide précieuse dans la préparation du travail de terrain. Je remercie aussi Alison Derry pour l'utilisation de la structure des mésocosmes. J'aimerais remercier la Station de Biologie des Laurentides ainsi que tout le personnel pour l'accueil à la station durant l'été 2015. Finalement, j'aimerais remercier le programme ÉcoLac du CRSNG pour le soutien financier durant ma maîtrise.

TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES FIGURES.....	vii
LISTE DES TABLEAUX.....	ix
LISTE DES ABRÉVIATIONS ET DES ACRONYMES	xi
LISTE DES SYMBOLS ET DES UNITÉS.....	xiii
RÉSUMÉ	xv
ABSTRACT	xvii
INTRODUCTION	1
0.1 Revue de littérature.....	3
0.1.1 Systèmes aquatiques et changements climatiques	3
0.1.2 Influence du carbone sur le phytoplancton	4
0.1.3 Le maximum de chlorophylle en profondeur.....	7
0.1.4 Facteurs limitant la production du phytoplancton.....	10
0.1.5 Influence du zooplancton sur le phytoplancton.....	11
0.1.6 Expériences précédentes sur l'influence des changements climatiques...	12
0.2 Objectifs de recherche	15
0.3 Hypothèses et prédictions.....	16
CHAPITRE I	
INTERACTION EFFECTS OF ZOOPLANKTON AND CO ₂ ON PHYTOPLANKTON COMMUNITIES.....	17
1.1 abstract.....	18
1.2 Introduction.....	19
1.3 Materials and methods.....	23
1.3.2 Abiotic variables	26
1.3.3 Statistical analysis	26
1.4 results.....	29

1.4.1 Treatment application effectiveness	29
1.4.2 Phytoplankton communities: spectral group	30
1.4.3 Phytoplankton communities : microscopic enumeration.....	42
1.4.4 Zooplankton biomass.....	43
1.5 discussion	45
1.5.1 Phytoplankton composition: CO ₂ and its interaction with zooplankton grazing	46
1.5.2 DCM responses to zooplankton and CO ₂ enrichment.....	48
1.5.3 Zooplankton responses	50
1.6 Conclusion	52
CONCLUSION	53
2.1 Conclusion du premier chapitre	53
2.2 Recommendations futures.....	57
APPENDIX A TREATMENT APPLICATIONS AND PHYSICO-CHEMICAL RESPONSES IN THE MESOCOSMS.....	59
APPENDIX B RELATIVE BIOMASS RESPONSES IN THE PHYTOPLANKTON COMMUNITIES	61
APPENDIX C PHYTOPLANKTON COMMUNITIES RESPONSES: MEANS, STANDARDS ERRORS AND P-VALUES.....	67
RÉFÉRENCES	71

LISTE DES FIGURES

Figure	Page
1.1 (a) Time series of epilimnetic CO ₂ in the epilimnia of the mesocosms by treatment across 4 weeks, and (b) time series of total zooplankton crustacean biomass	29
1.2 Contour plots of total chl _a biomass (µg/L) time series across the photic zone of Lac Croche as measured with the FP for total biomass in the four treatments: -C+Z (a), -C-Z (b), +C+Z (c), +C-Z (d)	32
1.3 Contour plots of BROWNS biomass time series in the four treatments (µg/L) as measured with the FP : -C+Z (a), -C-Z (b), +C+Z (c), +C-Z (d).....	33
1.4 Contour plots of GREENS biomass time series in the four treatments (µg/L) as measured with the FP : -C+Z (a), -C-Z (b), +C+Z (c), +C-Z (d).....	34
1.5 Contour plots of CRYPTOS biomass time series in the four treatments (ug/L) as measured with the FP : -C+Z (a), -C-Z (b), +C+Z (c), +C-Z (d).....	35
1.6 Contour plots of CYANOS biomass time series in the four treatments (µg/L) as measured with the FP : -C+Z (a), -C-Z (b), +C+Z (c), +C-Z (d).....	36
1.7 Mean (± SE) total phytoplankton spectral group (FluoroProbe) concentrations by treatment across the water column and through time for (a) total chl _a , (b) BROWNS, (c), GREENS, (d), CRYPTOS and (e) CYANOS. Boxes that share the same letter are not significantly different, where: <i>a</i> and <i>b</i> indicate the CO ₂ main effects, and <i>c</i> and <i>d</i> indicate the zooplankton main effects. Asterisks (*) indicate where a significant simple effect (interaction) was present (although the same letter for main effect may be indicated), as detailed in the text.	37
1.8 Treatment means (± SE) of the peak water column biomass concentrations (<i>DCM_{size}</i>) averaged across time for the spectral groups: (a) total chl _a , (b) BROWNS, (c), GREENS, (d), CRYPTOS and (e) CYANOS. Boxes that share the same letter are not significantly	

	different, where: <i>a</i> and <i>b</i> indicate the CO ₂ main effects, and <i>c</i> and <i>d</i> indicate the zooplankton main effects. Asterisks (*) indicate where a significant simple effect (interaction) was present (although the same letter for main effect may be indicated), as detailed in the text.	40
1.9	Treatment mean DCM_{depth} (\pm SE) averaged through time, as measured for the spectral groups: (a) total chl <i>a</i> , (b) BROWNS, (c), GREENS, (d), CRYPTOS and (e) CYANOS. Boxes that share the same letter are not significantly different, where: <i>a</i> and <i>b</i> indicate the CO ₂ main effects, and <i>c</i> and <i>d</i> indicate the zooplankton main effects. Asterisks (*) indicate where a significant simple effect (interaction) was present (although the same letter for main effect may be indicated), as detailed in the text.	41
1.10	Phytoplankton biovolumes (\pm SE) estimated microscopically from samples taken at 4.5m depth: (a) total biovolume, (b) chlorophytes, (c) chrysophytes, (d) cryptophytes, (e) euglenoids, (f) dinoflagellates, (g) cyanobacteria, (h) diatoms. Boxes that share the same letter are not significantly different, where: <i>a</i> and <i>b</i> indicate the CO ₂ main effects, and <i>c</i> and <i>d</i> indicate the zooplankton main effects. Asterisks (*) indicate where a significant simple effect (interaction) was present (although the same letter for main effect may be indicated), as detailed in the text.	43
B.1	Relative biomass concentrations (μ g/L) of FP spectral phytoplankton groups in the water column in the four treatments averaged through time.....	62
B.2	Relative biomass concentrations (μ g/L) of FP spectral phytoplankton groups in the DCM in the four treatments averaged through time.....	64
B.3	Relative biovolume (mm^3/L) of each of the major phytoplankton groups at 4.5m based on microscope counts in the four treatments averaged through time.	66

LISTE DES TABLEAUX

Tableau	Page
1.1	Variable abbreviations and transformations (if applicable) as used throughout the text and in the analyses..... 28
1.2	Temporal means of the coefficients of variation (\pm SE) of phytoplankton biomasses in the water column, ($CV_{profile}$) (a); phytoplankton biomass concentration in the DCM (maximum concentration; $CV_{DCMsize}$) (b); and phytoplankton DCM depth ($CV_{DCMdepth}$) (c); as measured for the spectral groups; significant main effect p -values from the 2-way ANOVAs are shown. 39
1.3	Means (\pm SE) of zooplankton biomasses ($\mu\text{g/L}$) from 2.5m and 4.5m depths; significant main effect p -values associated to the 2-way ANOVAs are shown. 44
A.1	Mean (\pm standard error, SE) of temporal mean CO_2 values (ppm) from the epilimnion (epi), metalimnion (meta), hypolimnion (hypo), and of depth and temporal mean values of crustacean zooplankton (zoo) ($\mu\text{g/L}$), pH, Dissolved oxygen (DO), total dissolved phosphorus (TDP) ($\mu\text{g/L}$) and total dissolved nitrogen (TDN) (ppm) across depths. CO_2 and zooplankton were analysed using 2-way ANOVA; pH and DO (%) were analysed using the Kruskal-Wallis test for non-normal data (interaction not testable). 60
C.1	Mean concentration ($\mu\text{g/L}$) (\pm Standard Error) of phytoplankton Fluoroprobe concentration across the water column (a); the size of the peak (DCM_{size})(b); and the depth of the peak (DCM_{depth}) (c) ; significant p -values associated to ANOVA analyses are shown. 68
C.2	Mean phytoplankton biovolume (mm^3/L) (\pm Standard Error) based on microscope counts; significant p -values associated to ANOVA analyses are shown. 69
C.3	Mean maximal electron transport rate (ETR_{max}) (relative value) (\pm Standard Error) based on PhytoPAM estimates; significant p -values associated to ANOVA analyses are shown..... 70

LISTE DES ABRÉVIATIONS ET DES ACRONYMES

CO₂ – Dioxyde de carbone

pCO₂ – Pression partielle du dioxyde de carbone

ppm – Parties par million

CCM – Mécanisme de concentration du carbone

Chl *a* – Chlorophylle *a*

GREENS – Chlorophytes mesurés par le Fluoroprobe

CYANOS – Cyanophytes avec les pigments phycocyanine mesurés par le Fluoroprobe

BROWNS – Diatomées, dinoflagellés et chrysophytes mesurés par le Fluoroprobe

CRYPTOS – Cryophytes et cyanophytes avec les pigments phycoerythrine mesurés par le Fluoroprobe

DO – Oxygène dissous

DOC – Dioxyde de carbone dissous

FP – Fluoroprobe

DCM – Deep chlorophyll maximum

MCP- Maximum de chlorophylle en profondeur

CCP- Couche de chlorophylle de profondeur

Zoo – Zooplancton

+Z – Présence de zooplancton crustacés

-Z – Absence de zooplancton crustacés

+C – Enrichissement en CO₂

-C – Absence d' enrichissement en CO₂

DCM_{size} - Taille de la biomasse maximale de chlorophylle

DCM_{depth} – Profondeur du maximum de chlorophylle

CV_{profile} - Coefficient de variation des valeurs de biomasse, représentant le degré au quel la biomasse maximale est accentué relativement au reste de la biomasse dans toute la colonne d'eau pour chaque date

CV_{DCMsize} –Coefficient de variation de la biomasse maximale à travers le temps

CV_{DCMdepth} –Coefficient de variation de la profondeur à laquelle la biomasse maximale a lieu à travers le temps

UV – rayons ultraviolets

pH – potentiel hydrogène

P – phosphore

N – Azote

C – Carbone

ETRmax –Taux maximal de transport d'électrons

LISTE DES SYMBOLS ET DES UNITÉS

m – Mètre

μ - Micron

L – Litre

g – Gramme

p - p-value

< - plus petit

> - plus grand

RÉSUMÉ

Les études examinant les conséquences de l'augmentation de la pression partielle de dioxyde de carbone ($p\text{CO}_2$) dans les écosystèmes d'eau douce (associée aux changements climatiques) étaient jusqu'à présent axées sur les effets directs sur le phytoplancton, démontrant une hausse de la productivité primaire, de la biomasse, ou une altération la composition de la communauté. Cependant, les dynamiques du phytoplancton dans les lacs ne sont pas uniquement régulées par les niveaux de $p\text{CO}_2$; la prédation par le zooplancton et par la stratification thermique y contribuent également. La biomasse du phytoplancton, telle qu'estimée par la chlorophylle *a*, dans plusieurs lacs tempérés se trouve principalement dans un maximum de chlorophylle en profondeur (MCP). Il est donc important de considérer cette strate pour comprendre la réponse du phytoplancton à l'augmentation de CO_2 . Des réponses d'interaction entre le zooplancton et le CO_2 sont possibles, puisque le broutage (en plus du rôle des facteurs physico-chimiques) peut affecter les caractéristiques du MCP. Des expériences en mésocosme ont été menées dans un lac meso-oligotrophe nord tempéré associé à un important MCP estival pour estimer l'effet indépendant, ainsi que l'interaction entre le broutage par le zooplancton et l'augmentation de CO_2 dissous sur la communauté phytoplanctonique entière ainsi que sur les caractéristiques du MCP. Une interaction de l'effet du CO_2 et du broutage par le zooplancton a eu lieu, influençant la biomasse du phytoplancton dans la colonne d'eau entière et dans le MCP. Le CO_2 a globalement eu un effet négatif inattendu sur la biomasse de phytoplancton. Nous n'avons pas observé d'effet du CO_2 sur les caractéristiques du MCP, mais le zooplancton y a eu des effets inattendus. Cette étude approfondie notre compréhension des conséquences des changements climatique sur la distribution verticale et la composition spécifique du plancton en lacs tempérés en élargissant nos connaissances à des conditions plus réalistes de la chaîne alimentaire et de la stratification des lacs.

MOTS-CLÉS : Phytoplancton, stratification, carbone inorganique, sursaturation, changements climatiques

ABSTRACT

Studies examining the consequences of increased partial pressure of carbon dioxide ($p\text{CO}_2$) in freshwater ecosystems associated with climate change have focused on direct effects for phytoplankton, showing increases in primary productivity, biomass or altered composition. However, phytoplankton dynamics in lakes are regulated by more than $p\text{CO}_2$ levels, including predation by zooplankton and thermal stratification. Phytoplankton biomass, as estimated with chlorophyll *a*, in many stratified lakes occurs mainly in a deep chlorophyll maximum (DCM) layer, making the response to CO_2 increase important to understand here. Response interactions with zooplankton are also possible as grazing can affect DCM characteristics in conjunction with physico-chemical factors. Mesocosm experiments were conducted in a meso-oligotrophic north temperate lake with a strong summer phytoplankton DCM, to estimate the independent and interaction effects of zooplankton grazing and elevated $p\text{CO}_2$ on water column phytoplankton communities and on DCM characteristics. Interaction of CO_2 effects with zooplankton grazing occurred, influencing water column and DCM phytoplankton biomass in several ways. Unexpectedly, CO_2 had an overall negative effect on phytoplankton biomass. We did not observe effects of CO_2 on DCM characteristics, but there were some unexpected effects of zooplankton. This study furthers our understanding of the consequences of climate change on the vertical distribution and species composition of lake plankton by extending our understanding to more realistic food web and stratified lake conditions.

KEY-WORDS: Phytoplankton, stratification, inorganic carbon, supersaturation, climate change

INTRODUCTION

Les changements climatiques des dernières décennies ont apporté leur lot de perturbations écosystémiques. Entre autres, l'augmentation continue de gaz carbonique (CO_2) modifie l'équilibre des gaz dans l'atmosphère et affecte la croissance végétale ainsi que les précipitations. Indirectement, ces changements peuvent augmenter la teneur de dioxyde de carbone dans les lacs et en affecter la biodiversité. À la base de la chaîne trophique des systèmes aquatiques, les communautés planctoniques sont responsables d'une grande part de la production primaire dans les lacs d'eau douce. En broutant le phytoplancton, le zooplancton permet de faire passer les ressources de cette communauté algale aux niveaux trophiques supérieurs, affectant directement la dynamique et la structure de leur population. D'ailleurs, étant un produit nécessaire à la photosynthèse, la teneur en CO_2 d'un lac pourrait affecter le phytoplancton, alors que le moindre changement dans ce dernier peut affecter directement le zooplancton.

Les études récentes effectuées sur l'impact de l'enrichissement de CO_2 sur le phytoplancton en eaux douces étaient menées à petite échelle et ignoraient l'impact de la pression de prédation exercée par le zooplancton. Également l'importance de la structure verticale dans un lac, incluant le maximum de chlorophylle en profondeur (MCP) a été négligée. Or, de récentes évidences ont suggéré que la profondeur différentielle de broutage du zooplancton pouvait modifier la distribution verticale du phytoplancton. Le but de cette recherche consistait donc à tester expérimentalement l'effet combiné du CO_2 et du broutage par le zooplancton sur la communauté phytoplanctonique et sur le MCP en faisant des manipulations en mésocosmes. L'objectif de cette étude est d'apporter de nouvelles précisions sur l'effet des

changements climatiques sur la distribution verticale du plancton et sa composition spécifique.

Cette expérience a été réalisée au Lac Croche de la Station de Biologie des Laurentides, Saint-Hippolyte, Québec, Canada durant l'été 2015. L'introduction du présent mémoire contient l'état actuel des connaissances sur le sujet étudié. Le Chapitre I est réalisé sous forme d'article scientifique et a été soumis à une revue pour publication éventuelle.

0.1 REVUE DE LITTÉRATURE

0.1.1 Systèmes aquatiques et changements climatiques

Selon le principe de l'exclusion compétitive élaboré par Hardin (1960), dans un milieu homogène à l'équilibre, le meilleur compétiteur pour l'élément limitant dominera le milieu. Or, dans les systèmes lacustres, notamment dans les maximums de chlorophylle en profondeur (MCP), on trouve une grande variété d'espèces et de groupes de plancton ayant différents traits fonctionnels qui coexistent et qui compétitionnent pour les mêmes ressources limitantes. C'est cette contradiction avec la théorie de Hardin qui a mené au concept de « paradoxe du plancton » (Hutchinson, 1961). Effectivement, la présence d'une structure verticale bien définie (Kalff, 2002) et la succession temporelle des conditions abiotiques rend le principe de Hardin non applicable aux systèmes aquatiques, puisqu'ils ne sont pas homogènes et n'atteignent donc jamais l'équilibre, ce qui permet la coexistence de nombreux groupes de plancton (Hutchinson, 1961).

La coexistence et la composition chez le plancton est sujette à changements dans un contexte de changements climatiques. Les taux de dioxyde de carbone atmosphérique ont effectivement augmenté de 40% depuis le début de l'ère industrielle (Hartman *et al.*, 2013) et sont toujours en hausse, menaçant de doubler le niveau actuel de CO₂ atmosphériques d'ici 2100 (Ciais *et al.*, 2013). Contrairement aux océans qui sont des puits de CO₂ (Sabine *et al.*, 2004), les lacs d'eau douce sont majoritairement des sources de CO₂, c'est-à-dire qu'ils émettent du CO₂ dans l'atmosphère (Jansson *et al.*, 2000; Grimm *et al.*, 2013) plutôt que de le fixer. Ces lacs sont donc sursaturés en CO₂. Ainsi, la pression partielle de gaz carbonique (pCO₂) des plans d'eau douce est

nettement plus élevée que celle de l'atmosphère. Les changements climatiques risquent donc d'affecter indirectement les concentrations de CO₂ dans lacs et non pas directement.

Dans les environnements lacustres, la productivité du bassin versant et la respiration terrestre sont les deux vecteurs contrôlant principalement la pression partielle du CO₂ (Maberly *et al.*, 2013). Or, ces deux facteurs seront perturbés par les changements climatiques. La productivité est favorisée sous un régime de fortes précipitations (Zhang *et al.*, 2007), de concentrations en CO₂ atmosphériques plus importantes et de température plus élevée (Long, 1991), ceci favorisant la respiration du sol (Hasler *et al.*, 2016). Avec le lessivage des sols accru engendré par les pluies abondantes, la teneur en carbone organique dissous (COD) augmente dans les lacs. Le COD est ensuite métabolisé par les bactéries aquatiques et transformé en CO₂ dissous (Jansson *et al.*, 2000; Grimm *et al.*, 2013). Ce phénomène est le facteur principal responsable de la sursaturation des lacs en CO₂ (Marcé *et al.*, 2015). Une autre cause possible de la sursaturation est l'apport au système en eaux chargées de COD provenant de l'érosion de minéraux ou de la respiration du sol dans le bassin versant (Marcé *et al.*, 2015).

0.1.2 Influence du carbone sur le phytoplancton

Avec le réchauffement climatique, la sursaturation des systèmes aquatiques ira en s'accroissant (Hasler *et al.*, 2016), risquant d'affecter la biodiversité. De plus, même si la majorité des lacs sont sursaturés en CO₂ (Cole *et al.*, 1994; Jonsson *et al.*, 2003; Downing *et al.*, 2006; Jansson *et al.*, 2012), de récentes expériences ont démontré que le CO₂ peut tout de même être limitant pour le phytoplancton (Badger *et al.*, 1998; Jansson *et al.*, 2012). Le dioxyde carbone, même sans qu'il n'y ait de changement

dans la couleur de l'eau associé au lessivage des sols, peut modifier la communauté des producteurs primaires, à la base des systèmes aquatiques.

En eau douce, le carbone inorganique peut se retrouver sous trois formes, un équilibre qui dépend du pH de l'eau. Lorsque l'eau est plus acide ($\text{pH} < 6,3$), l'équilibre favorise le CO_2 dissous, alors que lorsque l'eau est plus basique ($\text{pH} > 10,2$), le carbonate domine. Quand le pH est intermédiaire (entre 6,3 et 10,2), l'équilibre favorise le bicarbonate (Hollan *et al.*, 2012). Dans le processus de la photosynthèse, le phytoplancton utilise principalement le CO_2 comme source de carbone. Cependant, ce n'est pas tout le phytoplancton qui est autotrophe. Certaines espèces sont dites hétérotrophes, c'est-à-dire qu'elles acquièrent leur carbone sous forme organique, alors que d'autres sont mixotrophes et peuvent donc utiliser le CO_2 , ou le carbone organique (Wetzel, 2001), alternant entre les deux stratégies.

Le CO_2 étant un produit nécessaire à la photosynthèse, des changements dans les apports en CO_2 peuvent augmenter les taux de photosynthèse du phytoplancton. Étant actuellement à des teneurs limitant la productivité du phytoplancton (Jansson *et al.*, 2012), le carbone peut modifier la communauté ou la biomasse des producteurs primaires. Effectivement, l'enzyme responsable de la fixation du carbone pour la photosynthèse, la ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygénase (RubisCO), est seulement à la moitié de sa capacité de fixation lorsque le CO_2 est à l'équilibre avec l'atmosphère (Badger *et al.*, 1998). En résumé, en augmentant les précipitations (Zhang *et al.*, 2007) et les orages (Jones et Mulholland, 1998), les changements climatiques augmentent indirectement la teneur en COD dans les lacs par le lessivage accru des sols. Via la métabolisation de ce COD par respiration bactérienne, du CO_2 dissous est formé et est disponible pour le phytoplancton (Grimm *et al.*, 2013). Théoriquement donc, une augmentation en CO_2 devrait favoriser le phytoplancton. Cela est d'ailleurs supporté par les études évaluant en laboratoire

l'effet du CO₂ sur le plancton photosynthétique (ex. Urabe *et al.*, 2003; Kim *et al.*, 2006 ; Tortell *et al.*, 2008 ; Low-Decarie *et al.*, 2011; Jansson *et al.*, 2012).

Pour compétitionner dans cet environnement limité en CO₂, la majorité des groupes de phytoplancton, ont acquis différentes stratégies facilitant l'apport du carbone, ou bien son utilisation (Low-Decarie *et al.*, 2014). Ainsi, la plupart des espèces de phytoplancton ont développé des mécanismes de concentration du carbone (CCM) leur permettant d'augmenter la concentration de CO₂ au site de la photosynthèse (Price, 2011). Par exemple, une méthode consiste à pomper activement le bicarbonate, lequel est largement plus commun que le CO₂ (Urabe *et al.*, 2003; Maberly *et al.*, 2009). Favorisant la croissance dans des environnements où le CO₂ est limité, ces mécanismes sont toutefois coûteux énergiquement. Ainsi, dans un milieu chargé en CO₂, les algues possédant des CCM très efficaces sont désavantagées (Maberly *et al.*, 2009). De plus l'efficacité du CMM varie d'un groupe taxonomique de phytoplancton à l'autre, les cyanobactéries ayant le plus performant. L'efficacité photosynthétique du phytoplancton va également différer d'un groupe à l'autre pour l'utilisation du CO₂, au niveau de l'enzyme RubisCO elle-même, dépendamment de l'affinité de l'enzyme pour le CO₂ plutôt que pour l'oxygène (Low-Decarie *et al.*, 2014). Un autre mécanisme utilisé par le phytoplancton mixotrophe est l'utilisation de carbone organique comme source de carbone alternative en plus du CO₂ (Laybourn-Parry, 2002). La mixotrophie est aussi une stratégie connue pour être spécialement efficace lorsque la teneur en CO₂ est faible (Tittel *et al.*, 2005). Dans un contexte d'augmentation de CO₂, les organismes qui sont normalement les moins efficaces pour acquérir et utiliser efficacement le CO₂ bénéficieront le plus de l'augmentation de cette ressource (Low-Decarie *et al.*, 2014).

Bref, des changements dans les concentrations de CO₂ d'un lac peuvent affecter la photosynthèse du plancton autotrophe, modifier les interactions de compétition entre les différents groupes et changer la structure des communautés, dépendamment de

leur capacité à fixer et à utiliser ce carbone ainsi qu'à réagir rapidement aux fluctuations de CO₂ (Totell *et al.*, 2002, Riebesell, 2004; Maberly *et al.*, 2009, Low-Decarie *et al.*, 2015). Étant donné que les algues sont les producteurs primaires du réseau trophique aquatique, les répercussions de ces changements pourraient affecter toute la chaîne alimentaire de l'écosystème.

0.1.3 Le maximum de chlorophylle en profondeur

Une caractéristique particulière dans la structure verticale des lacs tempérés concerne l'agrégation de phytoplancton qui se retrouve en eau moyennement profonde entre le métalimnion et l'hypolimnion dans certains lacs et océans, appelé le maximum de chlorophylle en profondeur (e.g. Cullen, 1982; Klausmeier et Litchman, 2001; Camacho, 2006). Typiquement, le MCP (« Deep Chlorophyll Maximum », ou DCM, en anglais) d'un lac est une concentration maximale de chlorophylle qui est retrouvée à une certaine profondeur, souvent à la thermocline ou près de la partie supérieure de l'hypolimnion, loin de la surface (Camacho 2006). Par ailleurs, ces formations ne sont pas caractérisées par une plus grande quantité de chlorophylle par individus, mais plutôt par une biomasse extrêmement élevée des espèces par rapport à l'eau de surface. Selon les lacs, les MCP peuvent être composés d'une seule espèce d'algue, mais on y retrouve souvent une variété d'espèces et de groupes qui coexistent (Gasol *et al.*, 1992; Miracle *et al.*, 1992), en contradiction avec l'hypothèse d'exclusion compétitive de Hardin (1960). Dans les MCP, les groupes d'algues généralement retrouvés sont les chrysophycées (algues brun-jaune), les dinophytes, les chlorophytes (algues vertes), les bacillariophycées (diatomées), les cryptophytes et les cyanobactéries (algues bleu-vert) (Vincent, 1980; Reynolds *et al.*, 1983; Pick *et al.*, 1984; Gálvez *et al.*, 1988; Jackson *et al.*, 1990; Finlay *et al.*, 1991). Par ailleurs, par rapport aux espèces présentes dans l'épilimnion, les espèces de plancton du

métalimnion sont très constantes (Haffner et McNeely, 1989), c'est-à-dire qu'il y a peu de changements temporels dans le métalimnion.

Comprenant une grande part de la biomasse algale (Fee, 1976; Gasol et al., 1992), les MCP ont une grande valeur écologique. Puisqu'ils contribuent à une part importante de la production primaire (Moll *et al.*, 1984; Wollmann *et al.*, 2000), les MCP sont d'autant plus importants dans les lacs oligotrophes pauvres en nutriments (e.g. Cullen, 1982; Saros *et al.*, 2005). Effectivement, l'efficacité du réseau trophique, ainsi que sa structure et sa dynamique dépendent du rendement des producteurs primaires (Fennel et Boss, 2003; Tittel *et al.*, 2003) qui sont à la base du cycle biogéochimique des ressources (Huisman *et al.*, 2006).

0.1.3.1 Hypothèse de formation des MCP

Un facteur essentiel au maintien des populations de microorganismes phototrophes dans les MCP est la structure verticale des ressources (Carney *et al.*, 1988; Clegg *et al.*, 2007; Descy *et al.*, 2010). Ainsi, la principale théorie utilisée pour expliquer la formation des MCP est l'existence de forts gradients physiques de lumière et de nutriments présents dans les lacs et les océans. Selon cette hypothèse, les MCP se produiraient à la profondeur de compensation entre ces deux facteurs, puisque la lumière décroît avec la profondeur, alors que les nutriments diminuent vers la surface (e.g. Fee, 1976; Moll *et al.*, 1984; Coon *et al.*, 1987). D'ailleurs, le MCP se produit normalement sous la thermocline où se trouve une richesse en nutriments, ainsi que des niveaux de lumière, de température et de turbulence plus faibles (Moll et Stoermer, 1982). La profondeur de la thermocline elle-même peut donc influencer le MCP (Ouellet Jobin et Beisner, 2014). La distribution des nutriments dans les systèmes aquatiques semble également interagir avec le broutage du zooplancton pour maintenir le MCP (Pilati et Wurtsbaugh, 2003).

Gervais *et al.* (2003) ont proposé la présence d'une fine échelle de distribution spatiale à l'intérieur du MCP. Cette distribution serait le résultat de la position optimale pour chaque espèce dépendamment de leur capacité à faire face aux gradients de ressources (Yoshiyama *et al.*, 2009) et permettrait le maintien de la diversité par la diminution de la compétition interspécifique au profit de la compétition intraspécifique (Miyazaki *et al.*, 2006; Laird et Schamp 2008). En effet, il semble qu'un partitionnement vertical de l'espace par les espèces dans le MCP favorise une grande diversité dans cette couche, même avec un grand chevauchement (*spatial overlap*) entre les espèces (Ouellet Jobin et Beisner, 2014).

Cullen (1982) a également proposé que le MCP était le résultat de la sédimentation passive du phytoplancton qui s'accumulait en eau profonde où le taux de sédimentation est plus faible. Étant mobile, le plancton photosynthétique est aussi capable d'ajuster volontairement sa position dans la colonne d'eau selon différents facteurs environnementaux (Clegg *et al.*, 2007), notamment grâce à la photoréponse, laquelle aiderait les espèces stratifiantes à maintenir une position optimale dans le MCP (Heaney et Eppley 1981; Smayda, 1997). D'autres chercheurs ont suggéré que la croissance positive *in situ* des mixotrophes en profondeur expliquait les MCP (e.g. Bird et Kalff, 1989). La croissance positive et la productivité *in situ* des autotrophes a également été hypothétisée (Fee, 1976; Fahnenstiel et Glime, 1983; Moll *et al.*, 1984). Finalement, des mécanismes impliquant l'évitement de la toxicité, la symbiose entre le phytoplancton et les bactéries (Finlay *et al.*, 1996) ou les migrations journalières des algues ont aussi été proposés pour expliquer les MCP (Salonen *et al.*, 1984; Arvola *et al.*, 1992).

Ces hypothèses jouent certainement un rôle clé dans la distribution verticale du phytoplancton. Cependant, elles n'incluent explicitement pas les interactions trophiques des systèmes aquatiques. Effectivement, le rôle du zooplancton n'y est pas intégré, alors qu'il est bien connu qu'il affecte directement la population algale par le

broutage. Le zooplancton peut en effet filtrer jusqu'à 24% de l'eau d'un lac par jour (Sawatzky *et al.*, 2006). De récentes évidences suggèrent donc que la profondeur différentielle de broutage, associée au transport de nutriments vers le métalimnion (causé par la sédimentation des exsudats, le broutage et la migration du zooplancton) serait le principal facteur responsable de la formation des MCP (Longhurst, 1976; Sarnelle, 1999; Pilati et Wurtsbaugh, 2003; Sawatzky *et al.*, 2006). De plus, en broutant le phytoplancton de l'épilimnion, le zooplancton clarifie l'eau, ce qui augmente la pénétration de la lumière en profondeur et y permet la croissance du plancton photosynthétique (Pilati et Wurtsbaugh 2003; Christensen *et al.*, 1995).

La plupart des mécanismes proposés pour expliquer la formation des MCP sont tout de même importants et pourraient plutôt agir à titre de facteurs permettant leur maintien ou leur contrôle. Dépendamment des caractéristiques propres à chaque lac (la morphométrie, la biochimie, les patrons de mélange, etc.) ces facteurs auront plus ou moins d'importance (Camacho, 2006).

0.1.3 Facteurs limitant la production du phytoplancton

En plus d'une structure verticale bien définie, un autre facteur empêche l'hypothèse de l'exclusion compétitive (Hardin, 1960) de s'appliquer aux systèmes aquatiques. Effectivement, la productivité et la biomasse du phytoplancton ne sont pas régies par un seul facteur limitant; souvent un effet synergistique est observé entre plusieurs facteurs. Les ressources limitant typiquement le phytoplancton sont le CO₂, le nitrate et le phosphore. Le ratio de Redfield définit la proportion que chacun de ces éléments doit occuper dans le phytoplancton pour que sa croissance soit optimale (Libes, 2011). Durant les dernières décennies, les recherches se sont centrées sur le rôle du phosphore, puisque cet élément est naturellement disponible en très faible

quantité dans les systèmes aquatiques, alors que l'azote et le carbone étaient considérés en quantité suffisantes (Low-Decarie *et al.*, 2014). L'idée qu'un seul élément peut limiter la croissance du phytoplancton provient de la loi du minimum (Liebig *et al.*, 1841) stipulant qu'un seul élément à la fois peut limiter la productivité. Cependant, les activités humaines ont augmenté les concentrations d'azote et de phosphore naturellement disponibles dans les systèmes lacustres (Bennett *et al.*, 2001; Fowler *et al.*, 2013), rendant le CO₂ potentiellement limitant à son tour (Low-Decarie *et al.*, 2014). De nombreuses évidences démontrent ainsi que différentes ressources peuvent co-limiter la productivité du phytoplancton (Harpole *et al.*, 2011), ou même agir de façon synergétique (e.g. Elser *et al.*, 2007). Toutefois, la concentration du phytoplancton dans un système ne dépendra pas uniquement de sa limitation en termes de ressources, mais aussi du niveau de prédation auquel il est soumis. Si les nutriments et le carbone peuvent agir de pair pour limiter le phytoplancton, il est ainsi possible qu'il en soit de même pour le carbone et la prédation.

0.1.5 Influence du zooplancton sur le phytoplancton

Le zooplancton crustacé fait du broutage sélectif sur les communautés de phytoplancton dans la colonne d'eau, ainsi que dans les MCP des lacs. Effectivement, certains groupes de zooplancton ont des préférences alimentaires qui dépendent de la qualité nutritive des proies, ce qui influence fortement les interactions de prédation sur le phytoplancton (DeMott, 1986). Les copépodes calanoïdes et cyclopoïdes, ainsi que certains cladocères auraient donc cet atout (DeMott, 1986), lequel procure un net avantage lorsqu'il y a peu de proies nutritives (Lehman, 1976; Hughes, 1980). En sélectionnant ses proies en fonction de leur qualité nutritive, le zooplancton influence la composition de la communauté de phytoplancton.

Plusieurs zooplancton sont caractérisés par un comportement de migration, surtout les espèces de type brouteur du genre *Daphnia*. Durant la nuit, les brouteurs se retrouvent à la surface de l'eau où la qualité de la nourriture est supérieure (Cole *et al.*, 2002). Le jour, ils migrent dans les eaux profondes pour éviter la prédation par les poissons planctonivores. Durant cette migration, le zooplancton transporte les exsudats et les produits d'excrétion, enrichissant l'hypolimnion et y favorisant la production primaire (Fee, 1976). Ainsi, la distribution verticale du plancton animal est fonction de leurs proies et de leurs prédateurs (Leibold 1990; Pinel-Alloul 1995; Masson *et al.*, 2004).

0.1.4 Expériences précédentes sur l'influence des changements climatiques

L'effet du CO₂ sur le phytoplancton a principalement été étudié en milieu contrôlé ou en milieu océanique. Plusieurs études en laboratoire ont démontré qu'une augmentation de CO₂ favorisait le phytoplancton. Le CO₂ pourrait engendrer une augmentation de la biomasse (Urabe *et al.*, 2003; Verspagen *et al.*, 2014) ou de la croissance des producteurs primaire (Qiu et Gao, 2002; Kim *et al.*, 2006; Tortell *et al.*, 2008; Verschoor *et al.*, 2013). Il a aussi été expérimentalement démontré que le CO₂ intensifiait productivité primaire du phytoplancton (Qiu et Gao, 2002; Schippers *et al.*, 2004; Tortell *et al.*, 2008, Jansson *et al.*, 2012) et ce spécialement lorsque le milieu était également enrichi en nutriments (Low-Decarie *et al.*, 2015). Au contraire, en milieu marin appauvri en nutriments, le CO₂ peut diminuer l'abondance de certains groupes de phytoplancton (Yoshimura *et al.*, 2009).

Low-Decarie *et al.* (2011) ont produit une étude comparative portant sur l'effet du CO₂ sur différents groupes de phytoplancton. Même si tous les groupes ont connu une croissance accrue suite au traitement, les cyanobactéries ont eu le moins de succès, ce

qui a été attribué à la perte d'énergie causée par leur CMM. Toutefois, dans le cadre du projet « Carbon Addition Fertilization Experiment » (CAFE) Hart (2015) a évalué *in situ* l'effet d'une augmentation de CO₂ dans un lac nord tempéré méso-oligotrophe et a eu des résultats contradictoires avec les études de laboratoire. Une augmentation à court terme de la production primaire a été constatée, suivie par une disparition quasi-complète du MCP. Plus précisément, les groupes d'algues verts et bruns ont chuté, mais les cyanobactéries ont augmenté par rapport au contrôle. Parallèlement, le zooplancton a connu un pic de croissance. Ces résultats démontrent que la survie différentielle du phytoplancton n'a pas été causée par les différentes stratégies d'utilisation du carbone, mais plutôt par le broutage sélectif du zooplancton, ce qui correspond aux résultats de Pilati et Wurtsbaugh (2003) prédisant que le zooplancton contrôle la strate de chlorophylle en profondeur.

Pilati et Wurtsbaugh (2003) ont effectivement étudié l'effet du broutage du zooplancton sur le phytoplancton stratifiant. Ils ont effectué une étude en mésocosme dans un lac oligotrophe ayant une couche de chlorophylle en profondeur (CCP) (Le terme CCP est utilisé lorsqu'il n'y a pas un pic distinct de chlorophylle comme dans le cas du MCP, pour lequel le pic est plus défini. Les mécanismes de maintien, de contrôle et de formation apparaissent être les mêmes pour les deux types de structure verticale (Camacho 2006)) et ont mesuré l'effet du zooplancton brouteur et du transport de nutriments en profondeur sur le CCP. Leurs résultats ont démontré que dans les mésocosmes contenant des brouteurs, le phytoplancton épilimnétique diminuait au profit du CCP et que le flux de nutriments était important. Dans les traitements sans zooplancton, le CCP est disparu et il y a eu une augmentation algale en surface. Ces résultats suggèrent que le broutage du zooplancton, couplé au mouvement descendant des nutriments expliquerait le CCP.

Concernant l'effet direct du CO₂ sur le zooplancton, peu d'études ont été réalisées. Niehoff et al. (2013) ont étudié 9 mésocosmes marins durant un mois et n'ont pas

trouvé d'effet sur le zooplancton causé par une augmentation de CO₂. L'étude de Hart (2015) a quant à elle démontré un évitement du zooplancton pour l'épilimnion chargé artificiellement en CO₂. Cependant, le dioxyde de carbone peut davantage affecter le zooplancton indirectement, puisque tout changement dans le phytoplancton risque d'affecter le niveau trophique supérieur (Sterner et Elser, 2002; Van de Waal *et al.*, 2010). Le CO₂ est effectivement connu pour modifier à la hausse le ratio carbone : nutriments dans le phytoplancton (Urabe *et al.*, 2003). Or, plus ce ratio est élevée, moins la nourriture est nutritive pour le zooplancton (Van de Waal *et al.*, 2010), diminuant sa croissance (Urabe *et al.*, 2003). D'autres études ont donc conclu à un effet indirect négatif du CO₂, via un changement dans la composition stœchiométrique ou biochimique du plancton (Urabe *et al.*, 2003; Rossoll *et al.*, 2012; Lischka *et al.*, 2015).

Finalement, aucune étude n'a encore évalué l'effet combiné du CO₂ et du broutage par le zooplancton sur la distribution verticale et la composition du phytoplancton. En regroupant les précédentes études, il est possible de croire qu'une augmentation en CO₂ dans un système aquatique produise une rapide augmentation de la croissance algale, suivie par un broutage accru du zooplancton, lequel consomme des proies de moins bonne qualité et devient à son tour moins nutritif, affectant l'écosystème en entier. Cependant, la disparition du MCP observée par Hart (2015) est inconnue. La présente étude propose donc d'approfondir les connaissances sur l'effet de l'enrichissement en carbone sur le phytoplancton en incluant le broutage du zooplancton comme principale variable influençant la dynamique et la distribution du phytoplancton et en tenant compte de la distribution verticale et du maximum de chlorophylle en profondeur aux analyses.

0.2 OBJECTIFS DE RECHERCHE

Les chercheurs s'intéressent depuis plusieurs années aux conséquences des changements climatiques et nombreuses sont les recherches évaluant les effets de la hausse des concentrations de dioxyde de carbone. En milieu aquatique, les recherches précédentes se sont majoritairement déroulées en laboratoire ou en milieu marin. Les recherches effectuées en lac d'eau douce ont ignoré à la fois le rôle clé de la prédation par le zooplancton dans le contrôle des populations de phytoplancton, ainsi que la distribution verticale de ce dernier et l'importance de maximum de chlorophylle en profondeur. L'objectif principal de cette étude est donc de palier à cette lacune dans les connaissances sur les changements climatiques en étudiant l'effet indépendant, ainsi que l'interaction entre le broutage par le zooplancton et le CO₂ sur la communauté de phytoplancton et sa distribution verticale. Nous avons donc effectué une étude en mésocosme profond pour approfondir les connaissances sur les effets de l'augmentation de CO₂ sur le plancton en écosystème d'eau douce.

0.3 HYPOTHÈSES ET PRÉDICTIONS

Le but premier de cette recherche est d'évaluer l'effet d'une augmentation de CO₂ et du broutage par le zooplancton sur le maximum de chlorophylle de profondeur. Plusieurs hypothèses de travail sont donc posées afin de répondre à ce but précis.

H2 : Le phytoplancton est stimulé par l'enrichissement en CO₂. Les traitements avec ajout de carbone auront une plus grande biomasse de phytoplancton, et la productivité primaire sera également plus élevée.

H2 : Le broutage du zooplancton est amplifié par le CO₂. Dans les traitements avec ajout de CO₂, le broutage par le zooplancton est plus intense, en réponse à la rapide augmentation de phytoplancton.

H3 : Il va y avoir un changement dans la composition en espèces du phytoplancton selon les différents traitements. La présence de gros zooplancton limitant les algues brunes et vertes par le broutage et le CO₂ favorisant toutes les espèces (surtout celles ayant des CCM moins performants et celles ayant des exigences en CO₂ plus élevées). Le CO₂ et le zooplancton interagiront donc sur le phytoplancton.

H3a : +C; + Z : plus de cyanobactéries, moins des autres espèces (groupes d'algues vertes et brunes).

H3b : +C; - Z : tous les groupes d'algues profitent d'une augmentation de CO₂. Les groupes verts et bruns profitent davantage, à cause de la disparition de leurs prédateurs.

H3c : - C; - Z les groupes ciblés par le broutage (algues brunes et vertes) augmentent. Diminution des cyanobactéries à cause de la compétition.

H3d : -C; + Z : composition normale (contrôle).

CHAPITRE I

INTERACTION EFFECTS OF ZOOPLANKTON AND CO₂ ON PHYTOPLANKTON COMMUNITIES

This chapter was written in the form of a scientific paper and will be re-submitted to a peer-reviewed journal in APRIL 2017

0.1 ABSTRACT

Studies examining the consequences of increased partial pressure of carbon dioxide ($p\text{CO}_2$) in freshwater ecosystems associated with climate change have focused on direct effects for phytoplankton, showing increases in primary productivity, biomass or altered composition. However, phytoplankton dynamics in lakes are regulated by more than $p\text{CO}_2$ levels, including predation by zooplankton and thermal stratification. Phytoplankton biomass, as estimated with chlorophyll *a*, in many stratified lakes occurs mainly in a deep chlorophyll maximum (DCM) layer, making the response to CO_2 increase important to understand here. Response interactions with zooplankton are also possible as grazing can affect DCM characteristics in conjunction with physico-chemical factors. Mesocosm experiments were conducted in a meso-oligotrophic north temperate lake with a strong summer phytoplankton DCM, to estimate the independent and interaction effects of zooplankton grazing and elevated $p\text{CO}_2$ on water column phytoplankton communities and on DCM characteristics. Interaction of CO_2 effects with zooplankton grazing occurred, influencing water column and DCM phytoplankton biomass in several ways. Unexpectedly, CO_2 had an overall negative effect on phytoplankton biomass. We did not observe effects of CO_2 on DCM characteristics, but there were some unexpected effects of zooplankton. This study furthers our understanding of the consequences of climate change on the vertical distribution and species composition of lake plankton by extending our understanding to more realistic food web and stratified lake conditions.

0.2 INTRODUCTION

Climatic changes in recent decades have brought a variety of ecosystem disturbances. Among these, the continuous increase of carbon dioxide (CO₂) has altered the balance of gases in the atmosphere affecting growth of primary producers and precipitation (Zhang *et al.*, 2007). In lakes and streams, increased soil runoff through heavier precipitation events has increased input of dissolved organic carbon (DOC) (Evans *et al.*, 2005; Lennon *et al.*, 2013). which is transformed to CO₂ by bacteria (Cole *et al.*, 1994; Del Giorgio *et al.*, 1997; Jansson *et al.*, 2000; Prairie *et al.*, 2002; Sobek *et al.*, 2003; Grimm *et al.*, 2013). Many temperate inland lakes are naturally supersaturated with CO₂ partial pressure (pCO₂) levels considerably higher than atmospheric pCO₂ (Kling *et al.*, 1991; Jonsson *et al.*, 2003). However, with climate change, the supersaturation of aquatic systems may further increase, with potential consequences for their biodiversity and functioning.

Changes in water CO₂ concentrations, even in supersaturated lakes, can lead to an increase in phytoplankton productivity (Urabe *et al.*, 2003; Jansson *et al.*, 2012), as demonstrated by recent studies showing CO₂ (Badger *et al.*, 1998 ; Spijkerman, 2010; Jansson *et al.*, 2012). Many phytoplankton groups should theoretically benefit from greater CO₂ concentrations as the enzyme responsible for fixing carbon in photosynthesis, ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase-oxygenase (RuBisCO), is at only half of its binding capacity when CO₂ is at equilibrium with the atmosphere (Badger *et al.*, 1998). Indeed, several laboratory studies have demonstrated positive effects of CO₂ on photosynthetic plankton (ex. Urabe *et al.*, 2003; Kim *et al.*, 2006 ;

Tortell *et al.*, 2008; Low-Decarie *et al.*, 2011, Jansson *et al.*, 2012; Low-Decarie *et al.*, 2015).

Variation in the response to elevated CO₂ levels are expected however amongst phytoplankton taxa. This is because many, but not all phytoplankton have evolved effective carbon concentration mechanisms (CCM) enabling them to utilize sources of carbon other than CO₂, such as bicarbonate (Maberly *et al.*, 2009), and to better concentrate CO₂ at the cellular level (Kaplan and Reinhold, 1999). However, CCM physiology varies between different phytoplankton taxa, with cyanobacteria having more effective CCM than those that may be present in groups like chlorophytes and diatoms, or chrysophytes which do not have CCM (Low-Decarie *et al.*, 2014). While CCM enable growth when CO₂ is limiting, these mechanisms are energetically expensive and when dissolved CO₂ is abundant, taxa with highly effective CCM may become competitively disadvantaged (Maberly *et al.*, 2009). Phytoplankton also vary in their CO₂-use efficiency owing to their RuBisCO specificity factor, which determines the degree to which CO₂ versus O₂ is preferred (Low-Decarie *et al.*, 2014). Altered lake CO₂ concentrations can thus affect photosynthetic rates of autotrophic plankton and modify the established competitive interactions between different groups (Tortell *et al.*, 2002; Low-Decarie *et al.*, 2011), as per their ability to fix and use inorganic carbon and to react quickly to variation in CO₂ concentrations (Riebesell, 2004; Maberly *et al.*, 2009, Low-Decarie *et al.*, 2014). However, not all phytoplankton are obligatory autotrophic. Many taxa include mixotrophic species that can either acquire their carbon via photosynthesis or by other organic growth factors (e.g. glucose via osmotrophy), including phagotrophy of bacteria and smaller protists. The extent to which mixotrophy is a viable trait appears to also be influenced by CO₂ concentration, becoming more prevalent when concentrations are low (Tittel *et al.*, 2005).

While the evidence is mounting that CO₂ affects phytoplankton primary production and composition, there has been little focus on how such effects might play out within a stratified lake environment. In most oligo- to mesotrophic temperate lakes, the majority of phytoplankton biomass, as estimated with chlorophyll *a*, is found in the deep chlorophyll maximum (DCM) during much of the summer-stratified period. We have little understanding of how this concentrated biomass layer will be affected by elevated inorganic carbon (pCO₂) levels, as to date, studies have been conducted in the lab or focused on epilimnetic responses (Fee, 1976; Moll *et al.*, 1984; Coon *et al.*, 1987, Klausmeier and Litchman, 2001), recent evidence has suggested that zooplankton grazing at different depths is also relevant. Similarly, the influence of zooplankton on the effects of elevated pCO₂ in freshwaters has also been ignored to date.

The DCM is located between the metalimnion and the hypolimnion, often at the thermocline (e.g. Fee, 1976; Moll and Stoermer, 1982; Camacho, 2006) and mounting evidence indicates that its significance may also be influenced by zooplankton grazing. Grazing results in greater transport of nutrients to the metalimnion (via exudates sedimentation, grazing and migrating zooplankton), while also reducing turbidity in epilimnetic waters, enabling the formation of DCMs (Longhurst, 1976; Sarnelle, 1999; Pilati and Wurtsbaugh, 2003; Sawatzky *et al.*, 2006). Thus, in investigating the responses of lake phytoplankton communities to increased CO₂ concentrations, it will be necessary to also explore the responses of the biomass in the DCM, as the dominant phytoplankton structure, in conjunction with the top-down grazing by zooplankton.

To advance our understanding of lake plankton responses to climate change, and the role of CO₂ augmentation in particular, the next step is thus to investigate this question within a more realistic lake food web context. To this end, we conducted a manipulative lake mesocosm experiment to examine the potential interactions

between zooplankton grazing and elevated $p\text{CO}_2$ on water column phytoplankton biomass, productivity, composition and on the DCM characteristics. We expected that CO_2 enrichment would favour species without highly effective CCM, such as the chlorophytes, over the cyanobacteria, but that selective grazing by zooplankton on smaller, more nutritious chlorophytes and chrysophytes could interact with such bottom-up responses. We focused on the pure CO_2 effect, so as to advance the more mechanistic knowledge base for this aspect of climate change, despite the fact that increasing inorganic concentrations in lakes are likely to also be accompanied by a “brownification” phenomenon (e.g. Graneli, 2012). We further hypothesised that zooplankton grazing would influence the size and depth characteristics of the DCM, with amplified herbivory at elevated CO_2 concentrations in response to stimulated phytoplankton productivity. This study should better enable prediction and understanding of the impacts of climate change related to CO_2 augmentation specifically on aquatic food webs.

0.3 MATERIALS AND METHODS

The experiment was conducted over a four-week period in mesocosms anchored at the deepest point in the west basin of the north temperate Lac Croche (Station de Biologie des Laurentides, University of Montreal), Saint-Hippolyte, Quebec, Canada in summer 2015. Mesocosms consisted of 1m diameter x 10m deep enclosures of polyethylene plastic, open at the surface and closed to the surrounding water column. This lake basin typically stratifies strongly in June (Gauthier *et al*, 2014) and a DCM is generally present (Ouellet Jobin and Beisner, 2014). Once the lake had stratified, 16 mesocosms were installed (June 10th 2015) by filling each enclosure with filtered (54µm to exclude crustacean zooplankton) lake water taken equally from the epilimnion, metalimnion and the hypolimnion using a pump. Four treatments (each replicated across four enclosures) were subsequently applied in a 2x2 factorial design with two levels (none or added) of CO₂ addition and crustacean zooplankton. The CO₂ effect was evaluated by artificially increasing levels (+C) or leaving them at ambient (-C). To test the zooplankton grazing effect, zooplankton were excluded from mesocosms (-Z) or added in (+Z).

The zooplankton treatment was created by first excluding crustacean zooplankton from the lake water used to fill the mesocosms as previously described. For the +Z treatment, we then collected crustacean zooplankton from the water column using repeated vertical net hauls in the lake. These were added in equal mixtures (via repeated aliquots being partitioned out from a well mixed concentrate) into the zooplankton addition enclosures at ambient lake concentrations. After the mesocosm installation and zooplankton addition, we waited ten days before beginning the four-week experiment, to allow the DCM and the plankton community to stabilise.

For the experimental CO₂ additions, 18L bottles were filled in the lab with filtered (reverse osmosis) water from Lac Croche and then super-charged with CO₂ by adding in 65g of dry ice to each bottle. This super-charged water was then added by siphoning it into the appropriate mesocosm using a flexible Tygon tube running from the bottle to the mesocosm and submersed at 20cm depth. The initial addition of this super-charged water to the epilimnion of each +C mesocosm occurred the day prior to the first sampling resulting in pCO₂ concentrations around 2000ppm: four times the CO₂ concentration in the unenriched mesocosms, and three times the lake concentration on that date. Subsequent CO₂ additions were done weekly based on *in situ* measurements of pCO₂ with the goal of maintaining stable elevated concentrations.

0.3.1 biotic variables

A portable spectrofluorometer (FluoroProbe, bbe-Moldaenke, Kiel, Germany) was used to estimate biomass and the vertical spatial distribution of different phytoplankton spectral groups: GREENS (chlorophytes), CYANOS (cyanophyta containing phycocyanin pigment), BROWNS (diatoms + dinoflagellates + chrysophyta), CRYPTOS (cryptophyta + cyanophyta containing phycoerythrin pigment), and the total chlorophyll *a* concentration. Profiles at 25cm intervals were taken each morning, five times per week (Monday to Friday) in each mesocosm.

For phytoplankton species identification and biovolume estimates, Lugol's fixed water samples were taken at 4.5m deep (metalimnion) where the DCM typically occurs in the lake, by pumping water directly from the mesocosms into 125ml glass bottles using a Tempest sampling pump (Proactive Environmental Products). These phytoplankton samples were taken the day following the initial CO₂ addition, and

again four weeks later at the end of the experiment. Samples were later identified in the lab at 640X magnification using the Utermohl method on an Olympus inverted microscope. Phytoplankton biovolume was calculated using geometric formulae (Hillebrand *et al.*, 1999) and species abundances. Phytoplankton were then grouped for statistical analysis into their major classes: chlorophytes, chrysophytes, cryptophytes, euglenoids, dinoflagellates, cyanobacteria and diatoms.

Primary productivity was estimated by recording photosynthetic rates analysed with a PhytoPAMTM fluorometer (Walz, Germany) and using the maximum electron transport rate (ETR_{max}) estimated by the software. ETR_{max} values are good indicators of primary productivity levels, as they are representative of relative oxygen production rates (Körner and Nicklisch, 2002). There are many complicating assumptions and calculations required to estimate “real” primary productivity rates (in units of C-assimilation; $\mu\text{g L}^{-1} \text{h}^{-1}$) and our relativized approach avoids these potential pitfalls of variable estimation errors. Water samples for ETR_{max} estimation were taken at 2.5m depth (epilimnion sample) and 4.5m depth (metalimnion sample) from each mesocosm twice a week (including the same dates as the phytoplankton fixed samples were taken). Estimates were based on individual group responses as measured by the PhytoPAM (Blue = cyanobacteria, Green and Brown) and by the total response across all groups.

To evaluate the status of our -Z and +Z treatments, zooplankton were sampled once per week by collecting separate 12 L pumped (Tempest) water samples each from the epilimnion (2.5m) and the hypolimnion (6.5m). Water was filtered onto a 54 μm -mesh and zooplankton were then anesthetized with club soda and preserved in a 75% (final concentration) ethanol solution. In the lab, zooplankton were identified separately for each depth sample (later combined to a mean value) using a binocular microscope with crustaceans identified to species, and rotifers to genus.

0.3.2 Abiotic variables

CO₂ concentrations at the surface of each mesocosm were analysed every 2 days using an environmental gas analyser (EGM-4) and the headspace technique (Hope *et al.*, 1996). CO₂ profiles were also estimated weekly by analysing water pumped from the metalimnion (4.5m) and the hypolimnion (6.5m). Other environmental variables included dissolved oxygen (DO) concentrations, pH and temperature measured weekly at every 0.5m using a YSI6600 multiparameter sonde. Total dissolved phosphorus (TDP) and nitrogen (TDN) were estimated twice weekly by taking water samples from 2.5m and 4.5m depth. The samples were then analysed in the laboratory using the ascorbic acid-molybdate reduction method (Griesbach and Peters, 1991) after persulphate oxidation and autoclaving for TDP. TDN samples were analyzed with a continuous flow analyzer (ALPKEM Flow Solution IV) using an alkaline persulfate digestion method, coupled with a cadmium reactor, following a standard protocol (Patton and Kryskalla, 2003). Temporal means were calculated and compared by depth strata for CO₂ and for water column means for nutrients, pH and DO (Tableau A.1).

0.3.3 Statistical analysis

Various response variables were assessed (Tableau 1.1). Total and relative (square root transformed) biomasses of groups across the water column were estimated on each sampling date using mean FluoroProbe (FP) profile values. For the DCM we determined the depth at which maximum biomass in each FP group, including total chlorophyll, occurred, for every day sampled (DCM_{depth}). The size of the peak was the value of the chlorophyll (group or total) at this depth (DCM_{size}). The relative composition of the FP phytoplankton groups in the DCM (between 4 and 6 m depths)

was calculated as a function of total chlorophyll maximum across these depths and normalised with a square root transformation. The degree to which the peak was accentuated relative to background biomass across the profile on each date was estimated by the coefficient of variation of biomass values across depths ($CV_{profile}$ = standard deviation of the biomass values divided by the mean biomass values). Variation in phytoplankton peak size through time was assessed by calculating the coefficient of variation of peak biomass (DCM_{size}) across the sampling dates ($CV_{DCMsize}$ = standard deviation of the DCM_{size} measurements divided by the mean DCM_{size} values). Variation of the depth at which the peak occurred through time was calculated with $CV_{DCMdepth}$ (standard deviation of the DCM_{depth} observations divided by the mean DCM_{depth} values). Photosynthetic rates, as a proxy of primary productivity, were estimated by taking means of ETR_{max} across the epilimnetic and metalimnetic samples (hereafter: water column rates) and from only the metalimnetic (hereafter: DCM rates). All FP analyses were conducted using observations from the photic zone of the lake only (to 7 m depth; Gauthier *et al.*, 2014). For phytoplankton microscope counts, mean and relative biovolumes of the main taxa and total community were calculated across the two sampling dates, as results were similar to those obtained in separate timepoint analyses. Zooplankton densities were converted to biomass using published dry weight values (McCauley, 1984). A mean was calculated across the two sampling depths and then through time.

To test the main effects of CO_2 and zooplankton grazing, as well as their interaction on each response variable, model I two-factor ANOVA was used. Simple effects were tested using the F-ratio, obtained by dividing the mean square value of each factor by their respective pooled error term (error mean square) and by calculating the resulting *p*-value. All analyses were conducted in R version 3.2.2 (R Development Core Team, 2015). When data could not be normalised (pH, DO), the Kruskal-Wallis test for non-normally distributed data was used.

Tableau 0.1 Variable abbreviations and transformations (if applicable) as used throughout the text and in the analyses.

	Variable name	Abbreviation	Transformation
FluoroProbe (by group and total)	Overall water column biomass mean	mean	
	Relative biomass of group in total mean		square root
	Maximum biomass	DCM _{size}	
	Depth of the maximum biomass concentration	DCM _{depth}	
	Relative biomass of group in DCM total biomass		square root
	Coefficient of variation within biomass profiles on each date	CV _{profile}	
	Coefficient of variation in DCM _{size} through time	CV _{DCMsize}	
	Coefficient of variation in DCM _{depth} through time	CV _{DCMdepth}	
PhytoPAM (by group and total)	Maximum electron transport rate; proxy of primary productivity (water column and DCM rates)	ETR _{max}	
Microscopic counts	Mean biovolume of two samples		
	Relative community composition		arcsin square root
Zooplankton counts	mean zooplankton biomass through time		
Abiotic variables	CO ₂ mean through time in epilimnion, metalimnion and hypolimnion		
	Total dissolved phosphorus and nitrogen	TDP, TDN	
	pH		
	Dissolved oxygen	DO	

0.4 RESULTS

0.4.1 Treatment application effectiveness

CO₂ concentrations in the +C mesocosms were effectively raised with greater values in the epilimnia ($p<0.0001$) and the metalimnia ($p=0.04$) of enriched mesocosms, but not in the hypolimnia ($p>0.05$) (Tableau A.1). In the epilimnia of treated enclosures, concentrations increased immediately following CO₂ additions and then slowly decreased until the next addition (Fig. 1a). Although CO₂ concentrations were higher, mean pH ($p>0.05$) and DO ($p>0.05$) remained similar averaged across depths and unaffected by CO₂ enrichment (Tableau A.1). However, pH ($p=0.002$), DO ($p=0.005$) and TDN ($p=0.04$) were all significantly reduced in the +Z treatments (Tableau A.1).

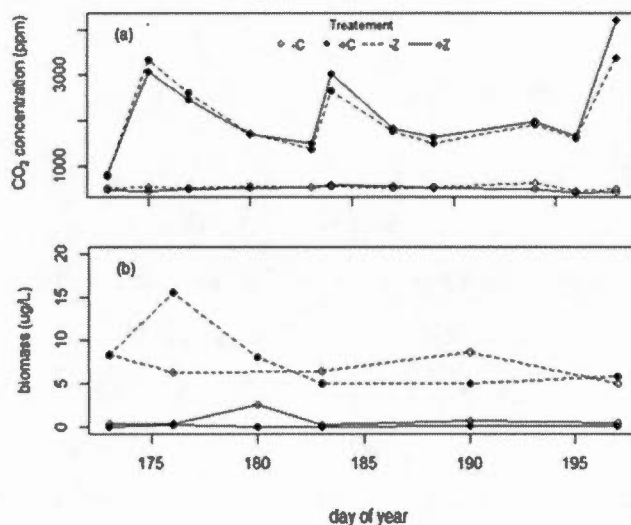


Figure 0.1 (a) Time series of epilimnetic CO₂ in the epilimnia of the mesocosms by treatment across 4 weeks, and (b) time series of total zooplankton crustacean biomass

Overall, treatments in which crustacean zooplankton had been removed (-Z) had almost no individuals, while densities in the +Z treatments were significantly ($p < 0.0001$) higher with total biomass around 7-8 $\mu\text{g/L}$ (Tableau A.1). The zooplankton community varied minimally through time, with significant differences maintained between treatments throughout the experiment (Fig. 1.1b).

A DCM did form in the mesocosms, between 4 and 6m deep, the depth at which it normally also occurs in the lake (Ouellet Jobin & Beisner 2014). The strength of the DCM did vary between the treatments and through time however (Fig. 2).

0.4.2 Phytoplankton communities: spectral group

0.4.2.1 Qualitative spatial-temporal patterns

In the baseline treatment (-C+Z) most resembling lake conditions, total chlorophyll *a* (chl*a*) concentration remained low in the water column throughout the experiment, with maximum concentration reaching 7 $\mu\text{g/L}$ (versus 12 $\mu\text{g/L}$ in the lake) (Fig. 1.2a). Removing zooplankton (-C-Z) led to the highest total chl*a* concentration with a maximum of 12.8 $\mu\text{g/L}$ (Fig. 1.2b). Chl*a* concentrations increased through time, mostly in the deeper water. Adding CO₂ to the baseline treatment (+C+Z) did not alter maximal biomasses from the baseline treatment, but greater mean chl*a* concentrations were observed through time (Fig. 1.2c). Finally, CO₂ enrichment without zooplankton (+C-Z) (Fig. 1.2d) also increased chl*a* concentration over time relative to the baseline condition, but to a lesser degree than without CO₂ (-C-Z).

By spectral group, the spatial-temporal patterns in the BROWNS and GREENS resembled those of total chl a (Fig. 1.3; Fig. 1.4). Generally, adding zooplankton (+Z) reduced concentrations (Fig. 1.3a, c; Fig. 1.4a, c), as did the addition of CO $_2$ (Fig. 1.3c, d; Fig. 1.4c, d). All treatments showed an accumulation of BROWNS at depth and the maximal concentration (7.9 $\mu\text{g/L}$) occurred in the -C-Z treatments (Fig. 1.3b), as for total chl a . Across all treatments, GREENS were distributed almost evenly in the entire water column. Concentrations were similar in the all treatments, but a slightly higher in the -C-Z treatment (Fig. 1.4b). The spectral group CRYPTOS contributed the least to total phytoplankton biomass, with maximal concentrations reaching only 0.57 $\mu\text{g/L}$ in the baseline -C+Z treatment (Fig. 1.5a). CRYPTOS were located mostly at the surface, especially in treatments without zooplankton (Fig. 1.5b, d). Across the water column, CRYPTOS biomasses were lower in the absence of zooplankton (Fig. 1.5b,d). Finally, concentrations of CYANOS were greatest (reaching 1.7 $\mu\text{g/L}$) in the baseline treatment (-C+Z) (Fig. 1.6a). Removing zooplankton from baseline conditions (-C-Z) reduced their presence in epilimnetic waters, but hypolimnetic concentrations remained elevated (Fig. 1.6b). In the two treatments enriched in CO $_2$ (+C+Z) and (+C-Z), concentrations decreased through time and CYANOS were almost only present in the hypolimnion (Fig. 1.6c, d).

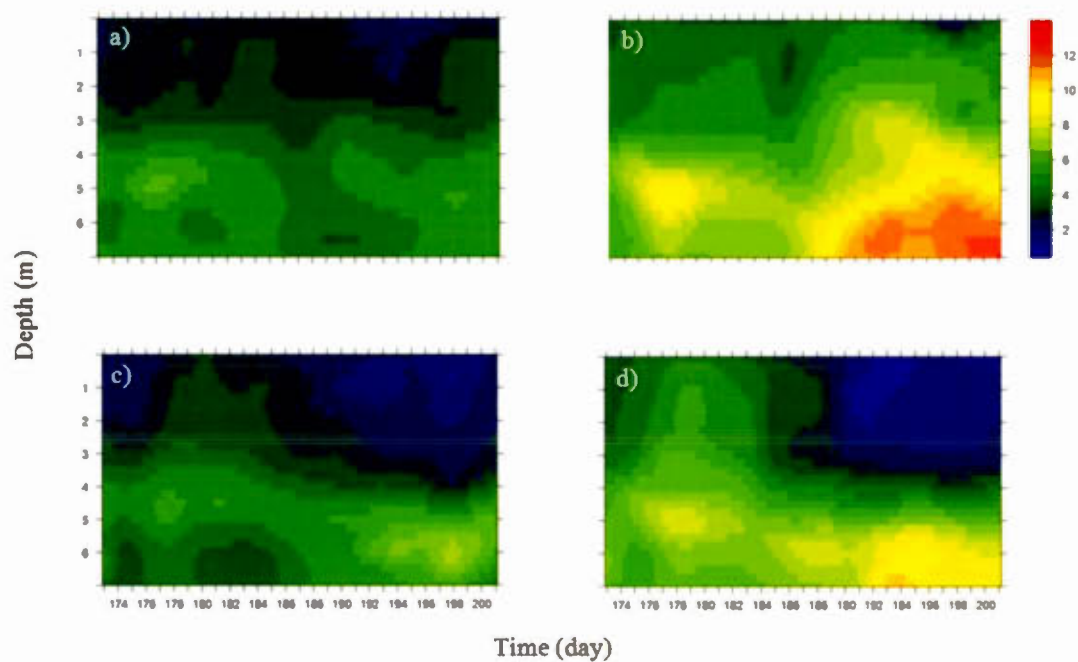


Figure 0.2 Contour plots of total chl *a* biomass ($\mu\text{g/L}$) time series across the photic zone of Lac Croche as measured with the FP for total biomass in the four treatments: -C+Z (a), -C-Z (b), +C+Z (c), +C-Z (d)

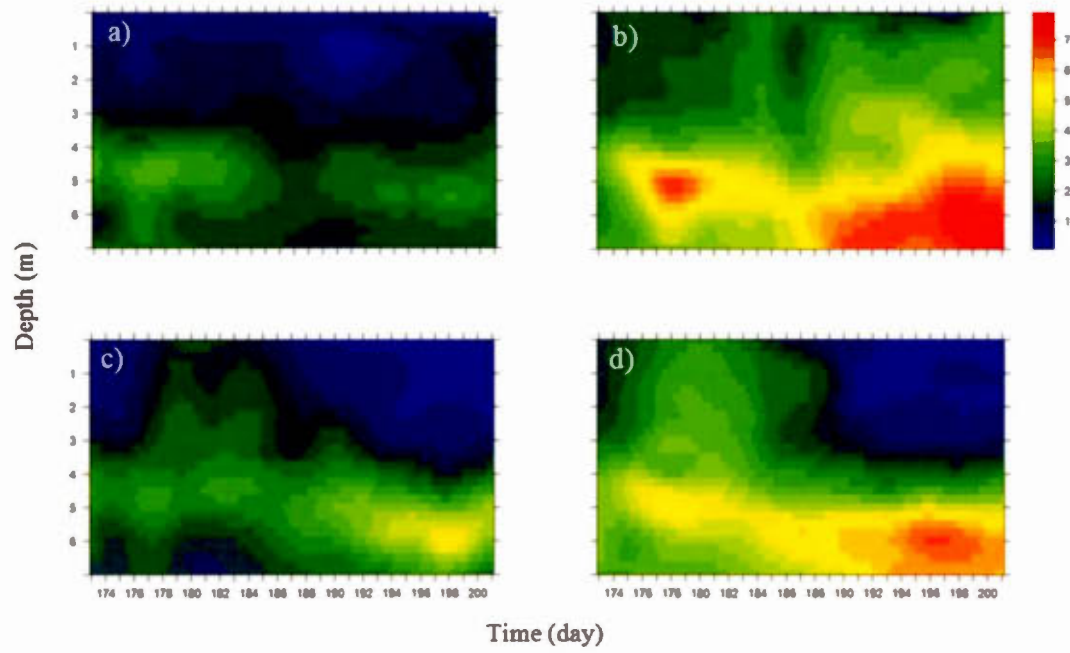


Figure 0.3 Contour plots of BROWNS biomass time series in the four treatments ($\mu\text{g/L}$) as measured with the FP : -C+Z (a), -C-Z (b), +C+Z (c), +C-Z (d)

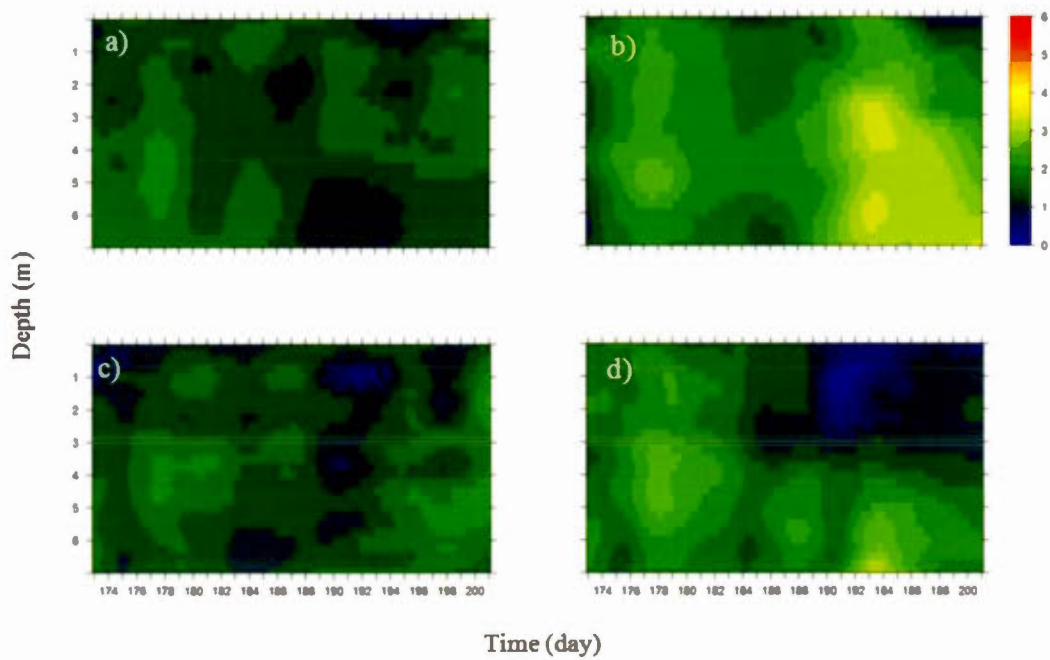


Figure 0.4 Contour plots of GREENS biomass time series in the four treatments ($\mu\text{g/L}$) as measured with the FP : $-C+Z$ (a), $-C-Z$ (b), $+C+Z$ (c), $+C-Z$ (d)

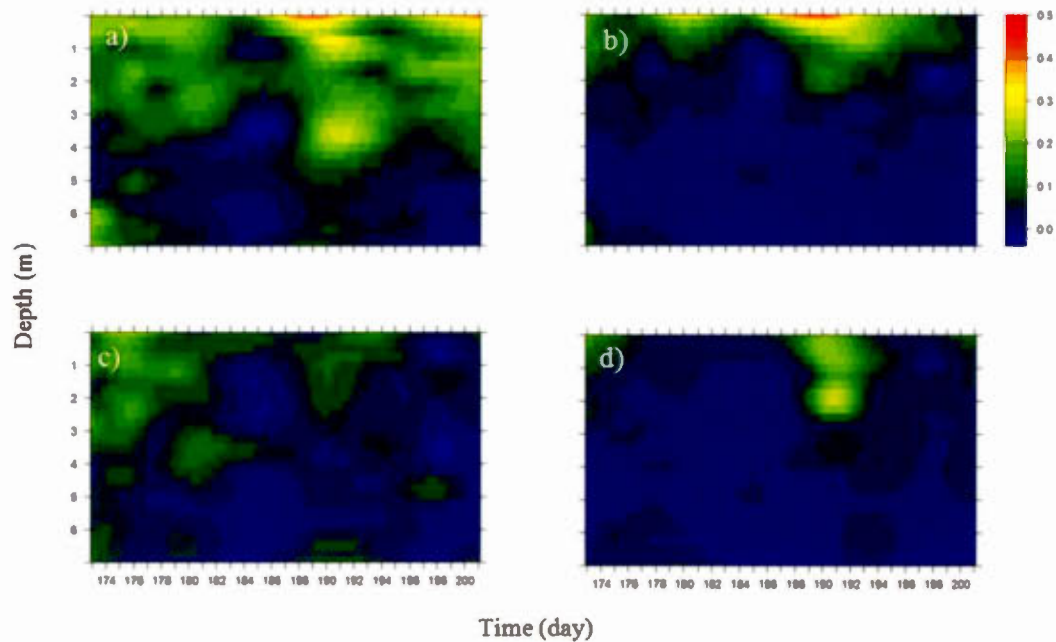


Figure 0.5 Contour plots of CRYPTOS biomass time series in the four treatments ($\mu\text{g/L}$) as measured with the FP : $-C+Z$ (a), $-C-Z$ (b), $+C+Z$ (c), $+C-Z$ (d)

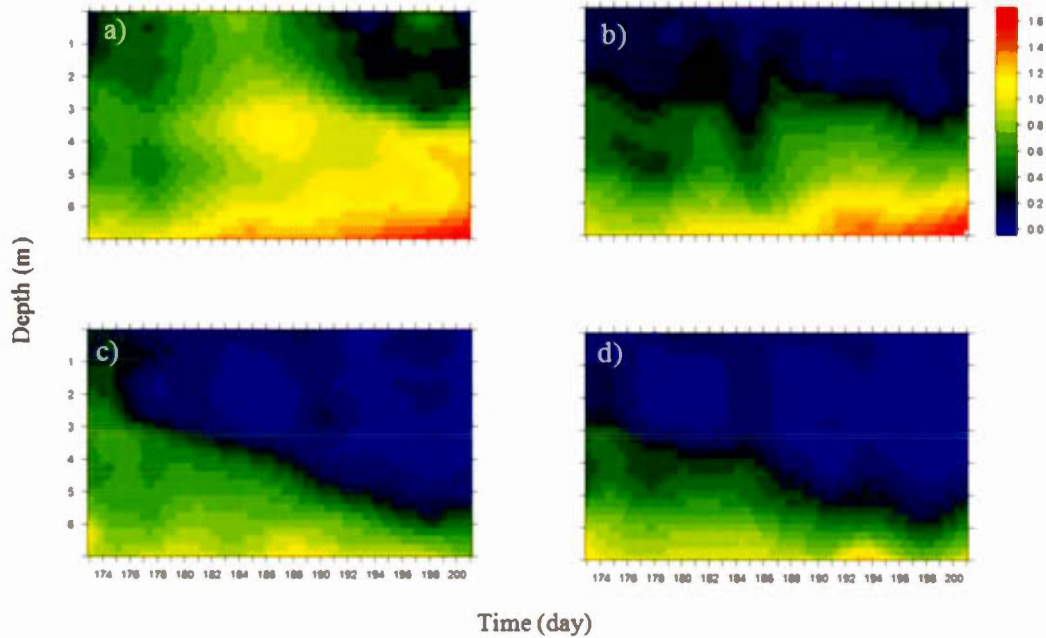


Figure 0.6 Contour plots of CYANOS biomass time series in the four treatments ($\mu\text{g/L}$) as measured with the FP : -C+Z (a), -C-Z (b), +C+Z (c), +C-Z (d)

0.4.2.2 Mean water column responses

Quantitatively, the temporal means of mean water column biomasses (total chl a) showed significant reductions with both zooplankton (+Z) ($p < 0.0001$) and +C ($p = 0.02$) addition (Fig. 1.7a). GREENS were significantly reduced by zooplankton ($p = 0.002$), but were unaffected by CO $_2$ addition (Fig. 1.7c). All other groups showed an interaction response to the treatments: BROWNS ($p_{\text{interaction}} = 0.03$), CRYPTOS ($p_{\text{interaction}} = 0.006$) and CYANOS ($p_{\text{interaction}} = 0.01$). For BROWNS, concentrations were highest in the -C-Z treatment and lowest in both +Z treatments (Fig. 1.7b). CO $_2$ enrichment had a negative effect on BROWNS only in the absence of zooplankton ($p_{\text{simple effect}} = 0.02$). CRYPTOS concentrations were highest in the -C+Z treatment and lowest in the +C-Z treatment (Fig. 1.7d) (all simple effects were significant).

CYANOS only benefitted from zooplankton presence without CO₂ addition ($p_{\text{simple effect}} < 0.0001$), with CO₂ enrichment having a negative effect both with ($p_{\text{simple effect}} < 0.0001$) and without ($p_{\text{simple effect}} = 0.0006$) zooplankton presence (Fig. 1.7e).

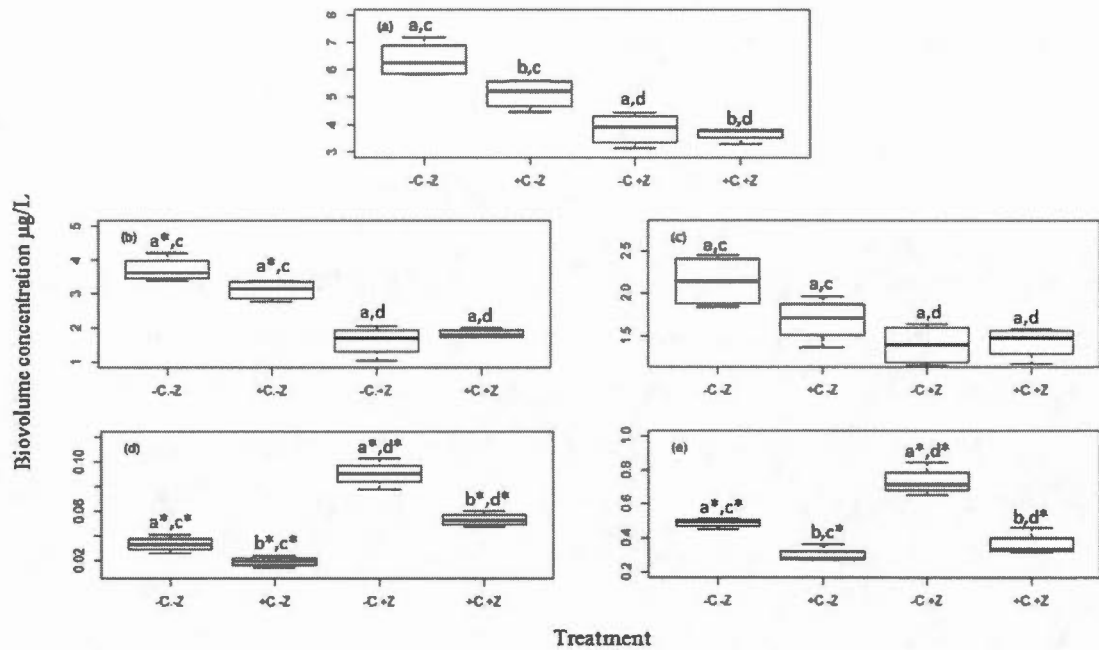


Figure 0.7 Mean (\pm SE) total phytoplankton spectral group (FluoroProbe) concentrations by treatment across the water column and through time for (a) total chl_a, (b) BROWNS, (c), GREENS, (d), CRYPTOS and (e) CYANOS. Boxes that share the same letter are not significantly different, where: *a* and *b* indicate the CO₂ main effects, and *c* and *d* indicate the zooplankton main effects. Asterisks (*) indicate where a significant simple effect (interaction) was present (although the same letter for main effect may be indicated), as detailed in the text.

For total ETR_{max} , rates were highest in the presence of zooplankton ($p=0.01$) and with CO_2 addition ($p=0.02$) (Appendice C; Tableau C.3). By group, cyanobacteria (Blue group) responded only to a main effect of zooplankton, with higher rates in their presence ($p=0.004$). Browns increased rates only in the presence of CO_2 addition ($p=0.003$) and Greens showed no significant responses.

0.4.2.3 DCM Responses

The addition of CO_2 significantly increased the DCM peakiness ($CV_{profile}$) for total $chl a$ ($p<0.0001$) and in each spectral group (all $p<0.05$) (Tableau 1.2a). While the addition of zooplankton did not affect $CV_{profile}$ of total $chl a$, zooplankton did increase $CV_{profile}$ in BROWNS ($p=0.008$) and GREENS ($p=0.003$) and decreased it for CRYPTOS ($p=0.0001$) and CYANOS ($p=0.004$) (Tableau 1.2a). No interaction effects were found for this response variable.

Zooplankton significantly ($p<0.0001$) reduced the size of the total $chl a$ peak (DCM_{size}) regardless of CO_2 addition (Fig. 1.8a), driven mainly by the BROWNS response ($p<0.0001$) (Fig. 1.8b). DCM_{size} in CRYPTOS increased significantly with zooplankton ($p<0.0001$) (Fig. 1.8d) but declined with CO_2 addition ($p<0.0001$), as did the CYANOS ($p=0.01$) (Fig. 1.8e). DCM_{size} for GREENS (Fig. 1.8c) did not respond significantly and no interaction effects were observed on any spectral group peak biomasses.

Tableau 0.2 Temporal means of the coefficients of variation (\pm SE) of phytoplankton biomasses in the water column, ($CV_{profile}$) (a); phytoplankton biomass concentration in the DCM (maximum concentration; $CV_{DCMsize}$) (b); and phytoplankton DCM depth ($CV_{DCMdepth}$) (c); as measured for the spectral groups; significant main effect p -values from the 2-way ANOVAs are shown.

	CV (%) \pm SE				p -value		
	-CO ₂		+CO ₂		CO ₂	zoo	Interaction
	+ZOO	-ZOO	+ZOO	-ZOO			
a) $CV_{profile}$							
GREENS	37.7 \pm 2.9	23.8 \pm 0.9	38.4 \pm 2.1	34.8 \pm 2.3	0.01	0.003	NS
CYANOS	46.2 \pm 7.7	70.4 \pm 6.2	100.9 \pm 1.5	115.5 \pm 4.0	<0.0001	0.004	NS
BROWNS	53.3 \pm 4.5	40.1 \pm 3.3	63.6 \pm 3.3	54.8 \pm 2.7	0.004	0.008	NS
CRYPTOS	170.8 \pm 7.0	250.4 \pm 7.9	220.2 \pm 14.2	257.6 \pm 11.3	0.02	0.0001	NS
TOTAL	28.3 \pm 1.4	29.2 \pm 2.3	38.9 \pm 1.3	43.9 \pm 3.2	<0.0001	NS	NS
b) $CV_{DCMsize}$							
GREENS	28.7 \pm 3.9	26.4 \pm 0.7	29.2 \pm 4.9	24.5 \pm 5.3	NS	NS	NS
CYANOS	26.3 \pm 2.2	22.8 \pm 3.3	26 \pm 4.7	23.2 \pm 4.5	NS	NS	NS
BROWNS	35.2 \pm 2.9	21.9 \pm 1.8	28.1 \pm 1.9	21.2 \pm 4.3	NS	0.005	NS
CRYPTOS	41.5 \pm 1.3	65.5 \pm 6.7	59.7 \pm 6.0	81.6 \pm 3.0	0.004	0.0005	NS
TOTAL	29.5 \pm 5.7	24.1 \pm 1.6	25.9 \pm 2.0	21.3 \pm 3.9	NS	NS	NS
c)							
$CV_{DCMdepth}$							
GREENS	67.3 \pm 4.8	56.3 \pm 4.9	67.6 \pm 5.1	47.2 \pm 9.4	NS	0.03	NS
CYANOS	25 \pm 8.7	4.8 \pm 0.7	14.2 \pm 6.1	3.1 \pm 1.0	NS	0.01	NS
BROWNS	20.7 \pm 4.8	15.5 \pm 1.0	25.5 \pm 6.4	17.4 \pm 4.3	NS	NS	NS
CRYPTOS	77.2 \pm 9.6	89.6 \pm 16.1	80.8 \pm 2.7	78.8 \pm 5.5	NS	NS	NS
TOTALS	22.3 \pm 3.3	15.5 \pm 1.7	20 \pm 2.4	14.3 \pm 1.2	NS	0.02	NS

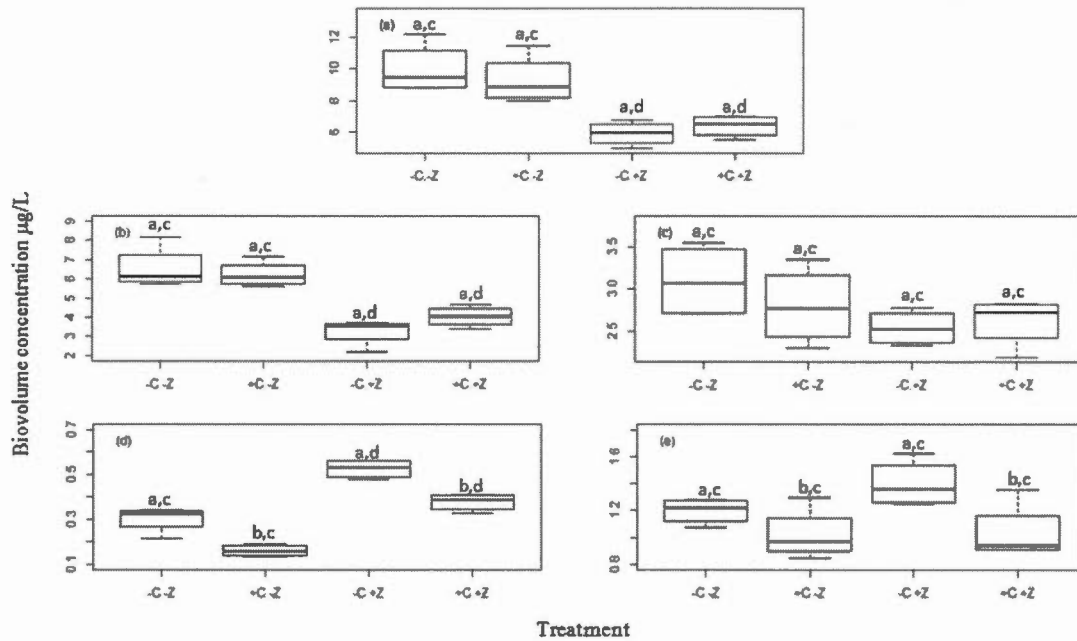


Figure 0.8 Treatment means (\pm SE) of the peak water column biomass concentrations (DCM_{size}) averaged across time for the spectral groups: (a) total chl *a*, (b) BROWNS, (c), GREENS, (d), CRYPTOS and (e) CYANOS. Boxes that share the same letter are not significantly different, where: *a* and *b* indicate the CO₂ main effects, and *c* and *d* indicate the zooplankton main effects. Asterisks (*) indicate where a significant simple effect (interaction) was present (although the same letter for main effect may be indicated), as detailed in the text.

The maximal depth of the CRYPTOS peak responded to the interaction of zooplankton and CO₂ ($p_{interaction}=0.03$) with a greater DCM_{depth} in the presence of zooplankton, but only without CO₂ enrichment ($p_{simple\ effect}=0.01$) (-C-Z vs. -C+Z; +C-Z; +C+Z) (Fig. 1.9d). The depth of the total chl *a* maximum (DCM_{depth}) was affected only by zooplankton addition (main effect), with shallower peaks occurring with grazers present ($p=0.01$) (Fig. 1.9a). The same occurred for the BROWNS ($p=0.004$), GREENS ($p=0.02$) and CYANOS ($p=0.04$) (Fig. 1.9b, c, e).

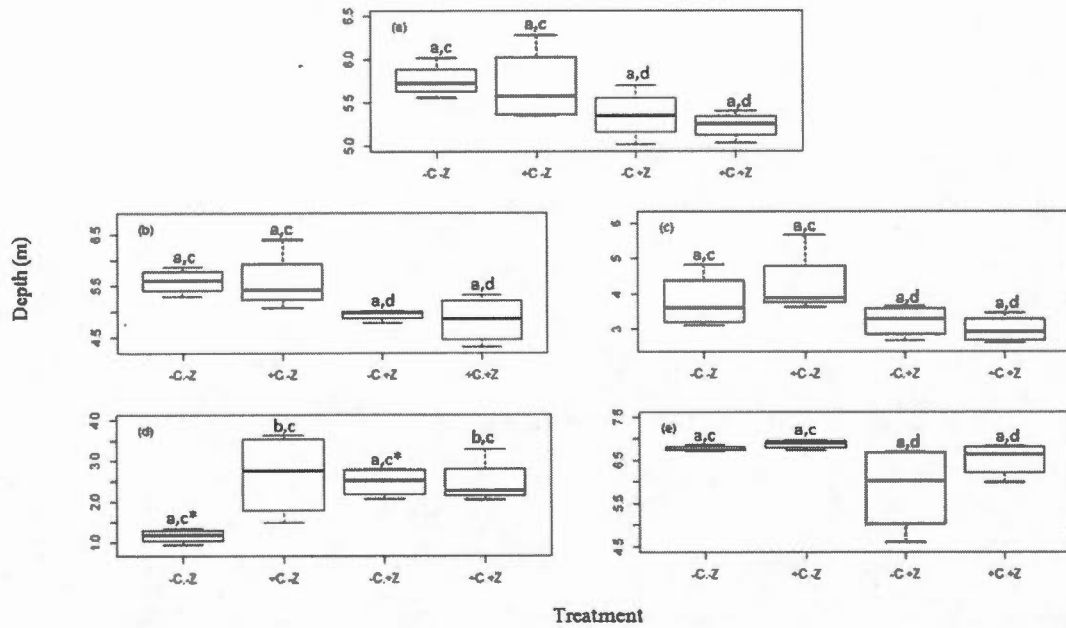


Figure 1.8 Treatment mean DCM_{depth} (\pm SE) averaged through time, as measured for the spectral groups: (a) total chl_a, (b) BROWNS, (c), GREENS, (d), CRYPTOS and (e) CYANOS. Boxes that share the same letter are not significantly different, where: *a* and *b* indicate the CO₂ main effects, and *c* and *d* indicate the zooplankton main effects. Asterisks (*) indicate where a significant simple effect (interaction) was present (although the same letter for main effect may be indicated), as detailed in the text.

Treatment effects on the variation in the size of the DCM through time ($CV_{DCMsize}$) only occurred for the BROWNS and CRYPTOS (Tableau 1.2b). With zooplankton, peaks in BROWNS varied more through time ($p=0.005$), while CRYPTOS varied less ($p=0.0005$). CRYPTOS peaks also varied more with CO₂ enrichment ($p=0.004$). Mean variation in the depth of the DCM for total chl_a through time ($CV_{DCMdepth}$) was greater in presence of zooplankton ($p=0.02$) (Tableau 1.2c). The depth of the chl_a peak was thus less stable when grazing occurred. The same tendency was observed

for CYANOS ($p=0.01$) and GREENS ($p=0.03$). $CV_{DCMdepth}$ did not significantly differ between treatments in the other spectral groups.

Values of ETR_{max} in the DCM showed similar results to the water column means, with zooplankton having a positive effect across all groups ($p=0.04$) and for cyanobacteria ($p=0.008$), while CO_2 had a positive main effect on the Browns ($p=0.003$) (Tableau C.3).

0.4.3 Phytoplankton communities : microscopic enumeration

Total phytoplankton biovolumes from the microscope counts responded similarly to mean total chl a estimated with the FP, both being negatively affected by zooplankton ($p=0.02$) and CO_2 ($p=0.0001$) (Fig. 1.10a). Zooplankton and CO_2 had interactive effects on cyanobacteria ($p_{interaction}=0.01$, Fig. 1.10g): zooplankton presence only had a positive effect without CO_2 addition ($p_{simple\ effect}=0.001$), while CO_2 enrichment had negative effects with ($p_{simple\ effect}<0.0001$) and without ($p_{simple\ effect}=0.03$) zooplankton. CO_2 and zooplankton both had negative main effects on chlorophytes ($p=0.0003$ and $p=0.02$; Fig. 1.10b). Biovolumes of chrysophytes ($p=0.002$; Fig. 1.10c) and dinoflagellates ($p=0.0001$; Fig. 1.10f) both declined in the presence of zooplankton. On the other hand, CO_2 positively affected diatoms ($p=0.0009$) (Fig. 1.10h). The two least abundant groups, cryptophytes (Fig. 1.10d) and euglenoids (Fig. 1.10e), did not respond significantly to either treatment application ($p>0.05$).

The lack of exact correspondence between the integrated depths across which biovolume concentration were estimated for the fluoroprobe and microscope counts could explain the slight variation observed in group dominance.

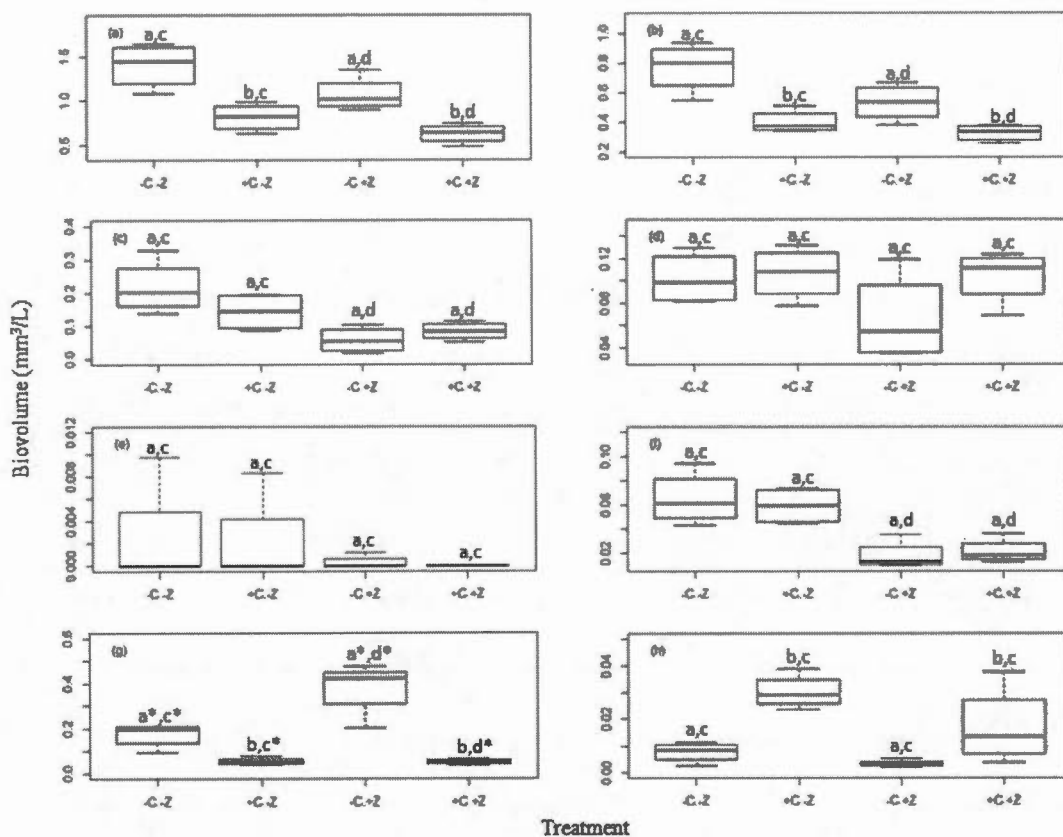


Figure 0.9 Phytoplankton biovolumes (\pm SE) estimated microscopically from samples taken at 4.5m depth: (a) total biovolume, (b) chlorophytes, (c) chrysophytes, (d) cryptophytes, (e) euglenoids, (f) dinoflagellates, (g) cyanobacteria, (h) diatoms. Boxes that share the same letter are not significantly different, where: *a* and *b* indicate the CO₂ main effects, and *c* and *d* indicate the zooplankton main effects. Asterisks (*) indicate where a significant simple effect (interaction) was present (although the same letter for main effect may be indicated), as detailed in the text.

0.4.4 Zooplankton biomass

None of the crustacean zooplankton groups responded to CO₂ addition (Tableau 1.3) with the exception of nauplii ($p=0.02$), which declined in the +C treatments. Rotifers

were not expressly excluded from the $-Z$ treatments and their biomasses responded to both CO_2 and zooplankton additions. Total biomass of rotifers (Tableau 1.3) was reduced by CO_2 addition ($p=0.001$). Responses by the rotifer communities to treatments varied by taxon. *Kellicottia* increased in both $+Z$ treatments ($p<0.0001$). *Keratella* and Gastropidae also increased in $+Z$ ($p=0.0002$ and $p=0.05$ respectively), but were reduced by CO_2 enrichment (both $p=0.02$). *Polyarthra vulgaris*, the most abundant species, was reduced both by the presence of zooplankton ($p=0.03$) and by CO_2 addition ($p=0.001$). Finally, *Trichocerca* were only negatively influenced by CO_2 ($p=0.01$), while *Synchaeta*, and Conochiliidae did not respond to treatments.

Tableau 0.3 Means (\pm SE) of zooplankton biomasses ($\mu g/L$) from 2.5m and 4.5m depths; significant main effect p -values associated to the 2-way ANOVAs are shown.

Biomass	-CO ₂		+CO ₂		CO ₂	zoo	Interaction
	+zoo	-zoo	+zoo	-zoo			
Crustaceans	Mean (µg/L) ±SE				p-value		
<i>Daphnia</i>	0.9±0.4	0.3±0.1	0.3±0.1	0.0±0.0	NS	0.04	NS
Small cladocerans	0.9±0.4	0.1±0.01	1.5±0.5	0.003±0.003	NS	0.001	NS
calanoids	3.3±1.1	0.02±0.02	4.7±1.5	0.0±0.0	NS	0.001	NS
cyclopoids	1.4±0.1	0.04±0.04	1.1±0.2	0.02±0.02	NS	<0.0001	NS
nauplii	0.5±0.1	0.1±0.1	0.2±0.1	0.03±0.01	0.02	0.001	NS
TOTAL Crustaceans	7.0±1.4	0.5±0.1	7.9±1.6	0.1±0.04	NS	<0.0001	NS
Rotifera	Mean (µg/L) x10 ⁻⁵ ± SE x10 ⁻⁵				p-value		
<i>Kellicottia</i>	1.4±0.2	0.4±0.2	1.1±0.3	0.1±0.04	NS	<0.0001	NS
<i>Keratella</i>	5.0±0.6	2.0±0.5	3.6±0.9	0.2±0.2	0.02	0.0002	NS
<i>Polyarthra</i>	188.0±125.0	572.0±108.0	18.6±2.9	47.3±20.4	0.001	0.03	NS
<i>Synchaeta</i>	2.8±0.4	2.7±1.1	1.6±0.5	3.0±0.4	NS	NS	NS
<i>Trichocerca</i>	99.2±56.3	101.0±16.5	7.1±1.5	12.8±7.4	0.01	NS	NS
<i>Gastropidae</i>	8.8±1.1	5.2±1.8	4.6±1.5	2.2±0.5	0.02	0.05	NS
<i>Conochilidae</i>	25.1±7.5	10.9±4.0	17.6±10.0	3.5±1.7	NS	NS	NS
TOTAL Rotifera	330.0±182.0	695.0±109.0	54.1±14.8	69.1±28.0	0.001	NS	NS

1.5 DISCUSSION

The major focus of this study was to determine whether zooplankton grazing and CO₂ increase would interact to influence characteristics of lake phytoplankton communities. An interaction was expected given that elevated CO₂ concentrations appear to differentially favour many phytoplankton taxa, but with effective CCM groups such as the cyanobacteria expected to benefit the least (Low-Décarie *et al.*, 2011). At the same time, zooplankton grazing is known to also selectively control phytoplankton biomass, but not in the same way as; for example, cyanobacteria can generally benefit from reduced competition when zooplankton grazing rates are high (e.g. DeMott, 1986). Finally, given that phytoplankton are non-uniformly distributed across the water column in many north temperate lakes, we also wanted to explore potential effects of both elevated CO₂ and zooplankton grazing on these spatial distributions. Previous work has indicated that zooplankton grazing can influence DCM formation and characteristics (e.g. Pilati and Wurtshbaugh, 2003), and given the bulk of phytoplankton biomass it contains, we expected responses to elevated CO₂ to occur here. The spatial-temporal patterns we observed revealed that a persistent vertical structure established in the mesocosms with communities dominated by BROWNS (mainly chrysophytes), as is generally the case for this lake (Ouellet Jobin and Beisner, 2014). Overall, our results indicate that even with three times the normal lake CO₂ concentration, zooplankton appear to exert at least equal, and often greater control over phytoplankton communities and DCM characteristics than does CO₂ enrichment. However, we also found that when ignoring spatial structure (i.e. focusing on the water column means), although total primary productivity rates increased with CO₂, phytoplankton biomass surprisingly declined, the mechanisms for which we will explore.

0.5.1 Phytoplankton composition: CO₂ and its interaction with zooplankton grazing

The clearest results from our study were that the dominant spectral groups (BROWNS and GREENS) both benefitted with higher biomass from zooplankton removal as would be expected (Sterner, 1989) when these highly edible groups are freed from grazing pressure. In contrast, in the presence of zooplankton, the less edible CYANOS were advantaged (although never dominant), under ambient CO₂ conditions. However, cyanobacteria also had elevated photosynthetic rates when zooplankton were present, irrespective of CO₂ concentration, indicating that they likely benefitted from reduced nutrient competition.

The most surprising result of the experiment was the unexpected decline in total chl_a concentration (FP) across the water column, as also evident in the phytoplankton microscopic counts from the DCM depth, with elevated CO₂. These results run contrary to the positive effect of CO₂ enrichment on phytoplankton observed in previous studies (e.g. Schippers, Lüring & Scheffer, 2004; Maberly *et al.*, 2009; Low-Decarie *et al.*, 2015). However, these studies differ from ours as they do not take into account higher trophic levels and positive effects of CO₂ were all observed in environments enriched with nutrients. In the FP measurements, total chl_a decreased in response to elevated CO₂, even though the total productivity increased (PhytoPAM). Similar patterns have been observed previously (Sobrino *et al.*, 2008; Sobrino *et al.* 2009) and attributed to a decrease in cellular Chl_a content after acclimation to elevated CO₂ conditions. However, the same decrease we observed in total biovolume from microscopic counts rejects this hypothesis.

When examining the more water column response by the individual FP spectral groups, none of them was decreased with CO₂ enrichment alone. Instead, BROWNS, CYANOS and the rare CRYPTOS, as well as cyanobacteria from the microscope counts, all responded to an interaction between CO₂ and zooplankton. CYANOS

appear to have lost their normal competitive advantage through inedibility from zooplankton removal (Sterner, 1989) under enriched CO₂ conditions. While we expected less benefit for CYANOS from CO₂ enrichment because of the physiological expense of operating the CCM, we did not anticipate a negative response. However, a negative response is possible if N₂-fixation was in use, as this process can be negatively affected by high CO₂ concentrations (Czerny *et al.*, 2009).

Groups like the BROWNS (including chrysophytes) and the GREENS with ineffective CCM, were expected to benefit from CO₂ enrichment based on theory and lab studies (e.g. Marberly *et al.*, 2009; Low-Decarie *et al.*, 2011). Our proxy estimates of total primary productivity showed enhancement with CO₂ addition, both in the DCM and across the water column, irrespective of zooplankton presence. Most of this increase resulted from augmented dominant Browns (PhytoPAM) productivity that did not translate into more BROWNS (FP) biomass. BROWNS concentration only decreased with CO₂ addition without zooplankton. This decline in biomass despite an increase in productivity could suggest top-down control on BROWNS. In the absence of crustacean zooplankton, the most likely predators would thus be larger ciliates and protists because rotifers declined drastically with CO₂ addition.

Greens productivity (PhytoPAM) and GREENS water column biomass (FP) did not increase with CO₂ and chlorophytes biovolume (microscope counts) decreased. A neutral effect of CO₂ was also observed on chrysophytes, dinoflagellates and true cryptophytes biomass. As the productivity was not affected by the CO₂ addition for the Greens, these enigmatic responses to CO₂ enrichment can be explained by an increase in nutrient requirements by phytoplankton with CO₂ enrichment (Beardall *et al.*, 2009). We did not enrich with nutrients in our experiment, and our C:N:P ratio increased three-fold as a result of CO₂ enrichment. When nutrients do not increase in parallel with CO₂, elevated inorganic carbon alters the C:N:P ratio (Burkhardt and Riebesell, 1997; Burkhardt *et al.*, 1999) because of co-limitation by nutrients and

CO₂, as has been suggested for temperate lakes (Jansson *et al.*, 2012). When the C:N:P ratio is unbalanced the CO₂ pool can be inaccessible for phytoplankton. Changes are also possible in cellular biochemistry of phytoplankton caused by altered (C:N:P) ratio, which alters the fatty acid proportion and fatty acid chain length (Riebesell *et al.* 2000) and also decreases their nutritional value. However, previous studies have also shown a smaller positive effect (Low-Decarie *et al.*, 2015) and even negative effects (Yoshimura *et al.*, 2009) of elevated CO₂ under nutrient-depleted conditions.

Diatoms represented the only group that significantly increased, in accordance with our initial hypothesis and with previous studies evaluating the limiting effect of CO₂ (ex: Riebesell *et al.* 2007; Tortell *et al.* 2008; Low-Decarie *et al.* 2011). Diatoms can better compete due to their high nutrient affinity (Smith & Kalff, 1983) and their large size (Finkel *et al.*, 2009). Overall, while we cannot identify the precise mechanism for the lack of increase in much of the phytoplankton biomass with CO₂ addition, despite greater primary productivity rates, consumption of the extra biomass of the BROWNS by ciliates and nutrient limitation of GREENS and other groups remains a viable hypothesis.

0.5.2 DCM responses to zooplankton and CO₂ enrichment

Selective grazing, water column clarification and nutrient transport are all factors by which zooplankton may influence the DCM (Pilati and Wurtsbaugh, 2003). Our expectation that chlorophyll peaks should be larger, more stable, and deeper in the presence of herbivores were not supported as total chl_a DCM peak size decreased in the presence of zooplankton (lead by BROWNS). Similarly, declines in total phytoplankton biovolumes were also observed in the counts at 4.5m and in the FP estimates between 4 and 6m depths in +Z treatments, caused by losses of BROWNS

(dinoflagellates and chrysophytes) and chlorophytes in favour of rarer cyanobacteria (CYANOS and CRYPTOS, probably including phycoerythrin-containing cyanophyta). Preclusion of DCM enhancement indicates that zooplankton in our mesocosms were feeding in deeper water and not predominantly in the epilimnion as observed elsewhere (e.g. Pilati and Wurtsbaugh, 2003); an observation also supported by shallower (DCM_{depth}) *chl a* peaks (total, BROWNS, GREENS and CYANOS). The total *chl a* peak depth also varied more through time ($CV_{DCMdepth}$) with zooplankton. Our results for zooplankton effects on the DCM run contrary to those of Pilati and Wurtsbaugh (2003), who showed DCM reinforcement with zooplankton and its disappearance without. However, in their study, the oligotrophic waters of the mesocosms were enriched (3-9%) with nitrogen, which may have allowed greater epilimnetic primary productivity (not present in our study) capable of supporting epilimnetic zooplankton feeding, thereby favouring the development of a deeper water phytoplankton biomass layer.

Evidence for a role of zooplankton in controlling aspects of the DCM in our study did emerge from the primary productivity estimates, as photosynthetic rates were higher across all groups in the metalimnetic samples when zooplankton were present; a result that did not appear in the epilimnion (not shown). The spatial-temporal patterns also suggest a role for herbivory in DCM control. While the peak in BROWNS was shallower, their overall occurrence in the epilimnion was reduced when zooplankton were present (also reflected in the total *chl a* response), indicating greater consumption by zooplankton of epilimnetic phytoplankton. Also, there was increased spatial variation ($CV_{profile}$) in the BROWNS across the water column with zooplankton, indicating a more clustered spatial distribution. The tendency was also true for GREENS. On the other hand, spatial variation of CYANOS and CRYPTOS decreased in zooplankton treatments, indicating a more even vertical distribution, likely because they are less grazed by zooplankton. Thus, the spatial distribution of phytoplankton also supports zooplankton selective grazing, with the more edible

BROWNS and GREENS being more clustered, and less edible CYANOS and CRYPTOS (probably including phycoerythrin-containing cyanophyta) occupying the entire water column. Finally, BROWNS also had greater temporal variation in the peak size ($CV_{DCMsize}$) with zooplankton, suggesting a less stable spatial pattern, as would be expected with predator-prey interactions. In contrast, the peak size in the likely less edible CRYPTOS was more stable in time with zooplankton. These results support, and provide novel new details on, the importance of zooplankton for phytoplankton vertical distribution.

We found only minimal interaction effects regarding the role of CO₂ enrichment and zooplankton on DCMs, with most responses resembling those across the water column. The only statistical interaction effect observed for the various DCM responses was for CRYPTOS, a group occurring at such low biomass levels, that the biological significance remains doubtful. The main effect of CO₂ enrichment was to increase the vertical variation in total chl *a* ($CV_{profile}$) and all spectral groups indicating more peaked vertical distributions, occupying a smaller portion of the whole water column. CO₂ is known to modify motile phytoplankton behaviour (Clegg *et al.*, 2007), which may explain these peaks, but otherwise CO₂ played a minor role in affecting DCM characteristics in this study.

0.5.3 Zooplankton responses

Previous studies on zooplankton responses to CO₂ have shown either indirect negative effects via a change in phytoplankton biochemical or stoichiometric composition (Urabe *et al.*, 2003; Rossoll *et al.*, 2012), or neutral effects (Aberle *et al.*, 2013; Niehoff *et al.*, 2013). Our study supports a neutral effect of CO₂ on crustacean zooplankton, but the potential for indirect ones in the long term because of shifts in the phytoplankton communities (Sterner and Elser, 2002; Van de Waal *et al.*, 2010).

The exception was for nauplii, which declined in +C treatments; indeed Cripps *et al.* (2014) showed that nauplii stages are the most vulnerable stage to elevated CO₂ concentration exposure. Changes in phytoplankton community composition, stoichiometry and primary production should affect micro-zooplankton (Suffrian *et al.*, 2008; Feng *et al.*, 2009; Lischka *et al.*, 2015; Rossoll *et al.*, 2012) in the shorter term, and we observed strong declines in rotifers with CO₂ enrichment. As mentioned, it was this decline in rotifers that may have benefitted mixotrophic phytoplankton and ciliates that are ideal rotifer prey (Arndt, 1993).

0.6 CONCLUSION

In our experimental food web context we did not observe an overall positive response to CO₂ in the phytoplankton as expected from lab studies or others done with simplified communities. Our study indicates that in the absence of zooplankton, investigation of responses by ciliates and protists should be the next step. Also, the effects of CO₂ addition with and without nutrient enrichment must be investigated in the food web context to verify whether nutrient limitation was behind the lack of phytoplankton biomass increase. Overall, our study demonstrates that the effects of CO₂ addition will often interact with grazing zooplankton to influence phytoplankton community structure and spatial patterns, including the DCM.

CONCLUSION

0.1 CONCLUSION DU PREMIER CHAPITRE

La conservation de l'intégrité du biote aquatique est essentielle à la pérennité de ces milieux et au maintien des nombreux services écosystémiques, économiques et touristique qu'ils apportent. Cependant, cette intégrité est menacée par les changements climatiques. La pression partielle du CO_2 augmente directement dans les océans conséquemment à de plus hautes concentrations dans l'atmosphère, causant le phénomène largement étudié d'acidification des océans. Dans les lacs cependant, les concentrations en dioxyde de carbone sont déjà plus élevées que celles de l'atmosphère. Le CO_2 atmosphérique ne peut donc pas influencer directement les lacs. Des modifications dans les régimes de pluies, une hausse de température et une augmentation de la concentration de dioxyde de carbone atmosphérique sont tous des facteurs par lesquels les changements climatiques affectent les lacs. Dans les milieux lacustres, les conséquences surviennent donc indirectement, principalement via une augmentation de l'apport en carbone organique dissous au système.

Étant à la base des systèmes aquatiques, le phytoplancton est un indicateur clé des changements se produisant dans un lac. Comme le CO_2 est un produit nécessaire à la photosynthèse, un changement dans sa pression partielle peut modifier la productivité et la communauté des producteurs primaires. De précédentes expériences menées dans des milieux océaniques, en laboratoire, ou en milieu lacustre fortement contrôlé ont aussi démontré qu'un apport en CO_2 favorisait le phytoplancton en augmentant sa

productivité ou sa biomasse. Cependant, les conclusions tirées de ces expériences peuvent difficilement être extrapolés à des systèmes aquatiques entiers, puisqu'elles ignorent l'importance de la prédation par le zooplancton sur les populations de phytoplancton, ainsi que le rôle clé de la stratification et du maximum de chlorophylle en profondeur présent dans plusieurs lacs tempérés. L'objectif de ce projet de maîtrise consistait donc à approfondir les connaissances actuelles sur les conséquences des changements climatiques sur le plancton des lacs tempérés. Une expérience de manipulation en mésocosme a été élaborée avec un design expérimental permettant d'évaluer à la fois l'effet indépendant CO_2 et du broutage par le zooplancton sur le phytoplancton, ainsi que de détecter pour la première fois une éventuelle interaction entre ces deux variables. L'épilimnion des mésocosmes enrichis en CO_2 a eu des concentrations de dioxyde de carbone 3 fois supérieures à l'eau du lac, et 4 fois celle des mésocosmes non-enrichis, alors que les mésocosmes avec zooplancton avaient une biomasse en zooplancton crustacés 26 fois plus élevée que les mésocosmes sans zooplancton. Un effet positif de l'enrichissement en CO_2 était attendu, en interaction avec la pression sélective exercée par le zooplancton.

Les résultats obtenus démontrent l'importance des interactions trophiques entre le zooplancton et le phytoplancton, puisque l'effet de contrôle des populations qu'exerce le zooplancton a été démontré tout aussi important que l'effet de l'enrichissement en CO_2 . L'hypothèse d'interaction entre le zooplancton et le CO_2 a cependant pu être confirmée, puisque 3 des 4 groupes spectraux de phytoplancton (CYANOS, BROWNS et CRYPTOS; pas GREENS) ont répondu en ce sens au niveau de leur biomasse moyenne dans toute la colonne d'eau. L'effet seul du zooplancton sur le phytoplancton correspond au broutage sélectif, favorisant les CYANOS et les CRYPTOS et défavorisant les BROWNS et les GREENS. Globalement, le CO_2 seul a quant à lui eu un effet négatif inattendu sur la concentration de phytoplancton dans toute la colonne d'eau. Cette diminution dans la biomasse de phytoplancton était toutefois associée à un effet positif du CO_2 sur la

productivité. Les cyanobactéries ont eu une réponse négative au CO_2 en termes de biomasse, couplé à un effet nul sur la productivité. Le mécanisme de concentration du carbone très efficace de ce groupe est probablement responsable de ce résultat, rendant les cyanobactéries moins compétitives en milieu enrichi en CO_2 . Pour le groupe d'algues brunes, l'effet négatif du CO_2 était seulement visible en l'absence de zooplancton. Cependant, la diminution de biomasse était aussi associée à une augmentation de productivité, suggérant un contrôle trophique. En l'absence de zooplancton, les ciliés et les larges protistes étaient probablement les prédateurs au haut de la chaîne alimentaire. Ils ont donc pu ingérer toute productivité supplémentaire par les algues brunes. Les diatomées sont le seul groupe de phytoplancton à avoir connu une augmentation de biomasse, leur forme en aiguille les rendant impropre à la consommation. Pour le groupe d'algues vertes, l'addition de CO_2 a eu un effet neutre sur la biomasse et la productivité. L'absence d'enrichissement en nutriment dans cette expérience peut avoir engendré ce résultat inattendu. En effet, le phytoplancton pourrait avoir besoin d'un équilibre dans le ratio carbone : nutriments pour bénéficier de l'apport en CO_2 .

Au niveau du MCP, il avait été hypothétisé que le zooplancton influençait positivement l'importance et la profondeur du pic. L'hypothèse de régulation du MCP par le zooplancton n'a pas pu être démontrée dans cette étude, celui-ci ayant été moins important et moins stable dans les traitements avec zooplancton. L'effet du broutage dans le MCP a été similaire à celui dans la colonne d'eau totale. Le CO_2 a lui aussi eu un effet similaire sur la composition et la biomasse de phytoplancton dans le MCP et dans toute la colonne d'eau, défavorisant les CYANO et les CRYPTO. L'effet globalement négatif du CO_2 a également été observé dans les comptes microscopiques de phytoplancton prélevé à 4.5m, où les cyanobactéries et les chlorophytes ont tous deux diminués en termes de biomasse dans les traitements enrichis en CO_2 . Cependant certaines évidences démontrent tout de même un rôle du zooplancton dans la distribution verticale du phytoplancton, les groupes de

phytoplancton comestibles ayant une distribution plus agglomérée, et les groupes non comestibles occupant davantage toute la colonne d'eau dans les traitements avec zooplancton. De plus, la productivité totale du phytoplancton était plus élevée au niveau du MCP dans les traitements avec zooplancton qu'au niveau de l'épilimnion. Nos résultats généralement contraires à ceux vu dans la littérature peuvent une fois de plus être attribuables à l'absence d'enrichissement en nutriments dans notre expérience.

En résumé, les résultats obtenus dans cette recherche démontrent l'importance d'inclure le zooplancton dans les futures études évaluant l'effet du dioxyde de carbone sur le phytoplancton. Effectivement, non seulement une interaction entre les deux variables mesurées était présente chez plusieurs groupes de phytoplancton, mais l'herbivorie était un facteur essentiel régissant les populations de phytoplancton pour la majorité des variables mesurées. Des impacts de l'enrichissement de CO₂ ont également été perçus au niveau trophique supérieur, chez les rôtifères et les nauplis, lesquels ont eu une diminution de biomasse, démontrant que les conséquences de l'enrichissement en CO₂ peuvent être transférées aux niveaux trophiques supérieurs. Cette étude permet d'approfondir les connaissances sur l'impact éventuel des changements climatiques et met en lumière l'importance d'effectuer davantage d'études à large spectre, en incluant les interactions trophiques.

0.2 RECOMMANDATIONS FUTURES

Cette étude en mésocosmes était la première à discerner une interaction entre le broutage par le zooplancton et la concentration en carbone inorganique dissous sur la biomasse et la composition de la communauté de phytoplancton. Ce résultat démontre l'importance d'inclure à la fois les influences du « bottom-up » et du « top-down » lors d'étude évaluant l'impact des changements climatiques sur le réseau de producteur primaires aquatiques. Les futures expériences évaluant les conséquences d'un enrichissement en CO_2 sur la communauté de producteurs primaires devraient donc tenir compte de cette interaction. Une prochaine expérience incluant la chaîne bactérienne, et plus précisément la communauté de ciliés sera essentielle pour confirmer les conclusions de cette recherche. Il sera également nécessaire d'évaluer distinctement la réponse du phytoplancton mixotrophe en comparaison au phytoplancton purement autotrophe. Éventuellement, il serait aussi intéressant d'évaluer si le CO_2 et le broutage par le zooplancton interagissent en milieu marin, et dans d'autres types d'environnement lacustres, comme dans les lacs eutrophes. Les expériences en mésocosmes sont toutes indiquées pour déterminer l'existence de telles interactions. Cependant, l'inclusion d'autres facteurs environnementaux sera éventuellement déterminante pour évaluer quelles autres variables interagissent avec le CO_2 sur le phytoplancton. Cette expérience suggère ainsi que la concentration en nutriments pourrait aussi jouer un rôle essentiel sur la biomasse de phytoplancton. Pour mieux créer un environnement représentant les changements climatiques, l'ajout de carbone organique dissous coloré sera aussi essentiel, puisque celui-ci augmente typiquement en parallèle avec le CO_2 et modifie également le couleur de l'eau. En général, l'ajout d'autres niveaux trophiques aux études, tel que les bactéries, ainsi qu'un apport en nutriments serait l'étape suivante pour approfondir les connaissances

dans ce domaine, et permettrait d'avoir un portrait plus global et de comprendre de façon plus précise comment les changements climatiques pourraient modifier les communautés aquatiques.

APPENDIX A

TREATMENT APPLICATIONS AND PHYSICO-CHEMICAL RESPONSES IN THE MESOCOSMS

Tableau A.1 Mean (\pm standard error, SE) of temporal mean CO₂ values (ppm) from the epilimnion (epi), metalimnion (meta), hypolimnion (hypo), and of depth and temporal mean values of crustacean zooplankton (zoo) ($\mu\text{g/L}$), pH, Dissolved oxygen (DO), total dissolved phosphorus (TDP) ($\mu\text{g/L}$) and total dissolved nitrogen (TDN) (ppm) across depths. CO₂ and zooplankton were analysed using 2-way ANOVA; pH and DO (%) were analysed using the Kruskal-Wallis test for non-normal data (interaction not testable).

	mean \pm SE				<i>p</i> -value		
	-CO ₂		+CO ₂		CO ₂	zoo	Interaction
	+zoo	-zoo	+zoo	-zoo			
CO ₂ epi	526 \pm 10.7	490.7 \pm 24.5	2055.4 \pm 60.9	2163 \pm 74.7	<0.0001	NS	NS
CO ₂ meta	807.8 \pm 80.6	927.1 \pm 60.7	1030 \pm 63.3	1092.9 \pm 119.8	0.04	NS	NS
CO ₂ hypo	1481.9 \pm 88.1	1640.9 \pm 143.9	1347.6 \pm 175.2	1575.6 \pm 140.5	NS	NS	NS
mean zoo	7 \pm 1.4	0.5 \pm 0.1	7.9 \pm 1.6	0.1 \pm 0.04	NS	<0.0001	NS
mean pH	6.8 \pm 0.04	7.1 \pm 0.1	6.7 \pm 0.02	7.4 \pm 0.4	NS	0.002	N/A
mean DO	69.0 \pm 1.3	76.5 \pm 1.8	72.0 \pm 1.7	76.3 \pm 1.3	NS	0.005	N/A
Mean TDP	2.5 \pm 0.1	2.6 \pm 0.2	2.9 \pm 0.05	3.0 \pm 0.3	NS	NS	NS
Mean TDN	0.19 \pm 0.002	0.2 \pm 0.001	0.19 \pm 0.006	0.2 \pm 0.003	NS	0.04	NS

APPENDIX B

RELATIVE BIOMASS RESPONSES IN THE PHYTOPLANKTON COMMUNITIES

B.1 MEAN WATER COLUMN RELATIVE COMPOSITION BASED ON

FLUOROPROBE PROFILES

All communities were dominated by GREENS and BROWNS (Fig. B1). An interaction ($p_{\text{interaction}}=0.02$) was found between zooplankton and CO₂ for relative biomass of CYANOS : greater increases in the presence of zooplankton than in their absence, but much more significantly so without CO₂ addition (4.4% of the community in -C+Z; $p_{\text{simple effect}} < 0.0001$ for -C and $p_{\text{simple effect}}=0.01$ for +C). A negative effect of CO₂ enrichment was only observed in the presence of zooplankton ($p_{\text{simple effect}}=0.0002$). For other groups, main effects were present: adding zooplankton lead to a decline in BROWNS ($p < 0.0001$) in favour of GREENS ($p=0.001$) and CRYPTOS ($p < 0.0001$). CO₂ addition changed the community composition in almost the complete opposite way: CRYPTOS ($p=0.002$) were disadvantaged in +C treatments, with BROWNS ($p=0.01$) benefitting.

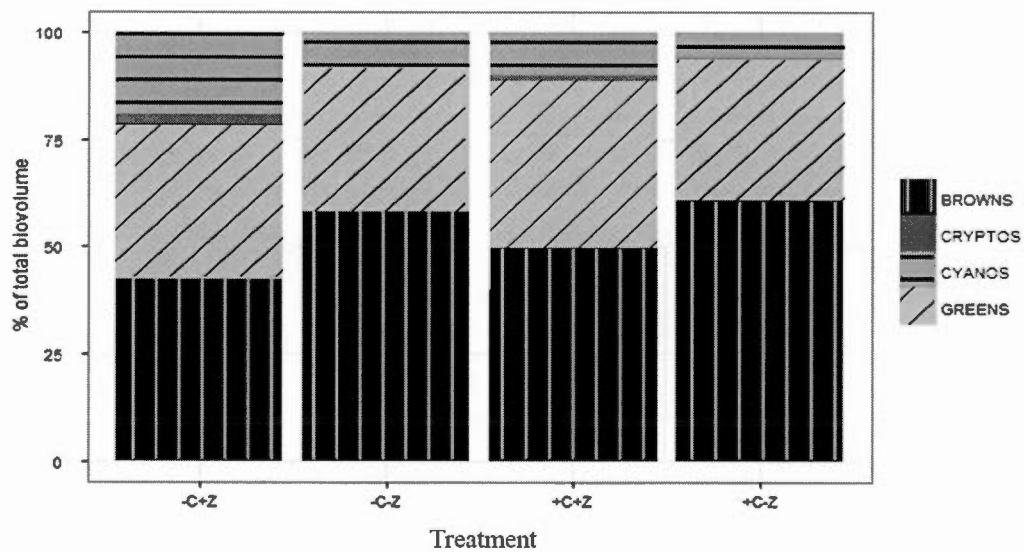


Figure B.1 Relative biomass concentrations ($\mu\text{g/L}$) of FP spectral phytoplankton groups in the water column in the four treatments averaged through time.

B.2 RELATIVE COMPOSITION IN THE DCM BASED ON FLUOROPROBE

PROFILES

While phytoplankton community composition in the DCM responded to the treatments (Fig. S6), they were always dominated by BROWNS and GREENS. Zooplankton and CO₂ interacted on CRYPTOS concentration ($p_{\text{interaction}}=0.05$): CO₂ only had a negative effect in the presence of zooplankton ($p_{\text{simple effect}}=0.02$). Adding CO₂ to the baseline treatment of -C+Z led to a relative decrease from 1.0% to 0.37% in CRYPTOS. Zooplankton additions lead to less representation by BROWNS ($p=0.002$), but more GREENS ($p=0.01$) and CYANOS ($p=0.0003$) with CO₂ addition having the opposite effect, increasing the percentage of representation by BROWNS ($p=0.02$) and decreasing CYANOS representation ($p=0.001$). These results are similar to those observed for the overall water column means.

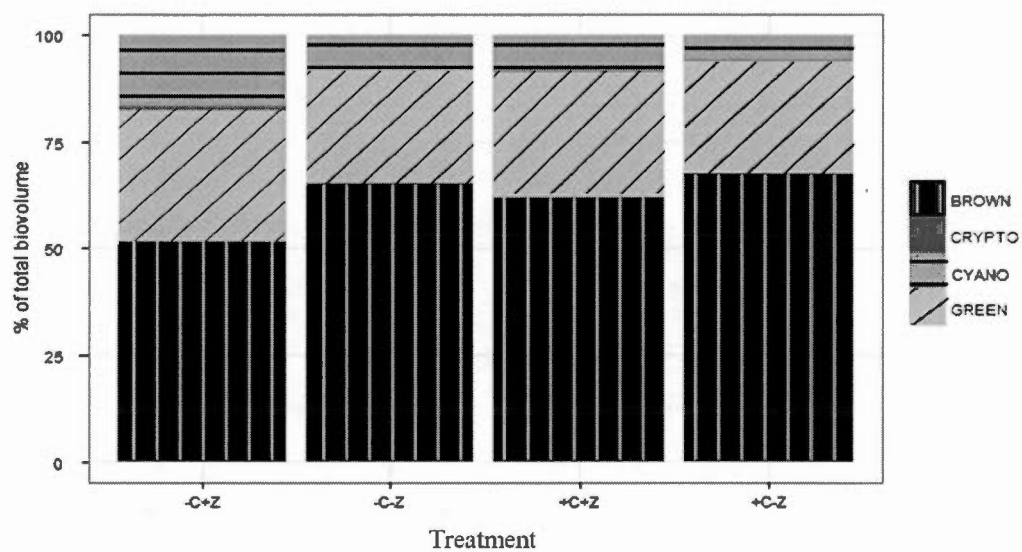


Figure B.2 Relative biomass concentrations ($\mu\text{g/L}$) of FP spectral phytoplankton groups in the DCM in the four treatments averaged through time.

B.3 RELATIVE COMPOSITION BASED ON MICROSCOPIC

ENUMERATION

The changes in phytoplankton community composition are also visible in the relative biovolumes in the DCM (Fig. S7) with chlorophytes dominating all communities at 4.5m. CO₂ and zooplankton interacted to affect cyanobacteria relative biomass ($p_{\text{interaction}}=0.004$): Adding CO₂ (+C+Z) to the baseline condition of -C+Z led to a large relative decrease from 35.9% to 7.9% ($p_{\text{simple effect}} < 0.0001$). However, zooplankton only had a positive effect without CO₂ addition ($p_{\text{simple effect}}=0.0001$). The proportion chrysophytes ($p=0.02$), cryptophytes ($p=0.0001$), dinoflagellates ($p=0.01$) and diatoms ($p=0.0002$) increased in relative biovolume with CO₂. Diatom biovolume was less than 1% in both -C treatments and increased with CO₂ addition to 2.7% with zooplankton and up to 3.9% without zooplankton. Zooplankton had the opposite effect from CO₂, with chrysophytes ($p=0.002$) and dinoflagellates ($p=0.0005$) decreasing in +Z treatments.

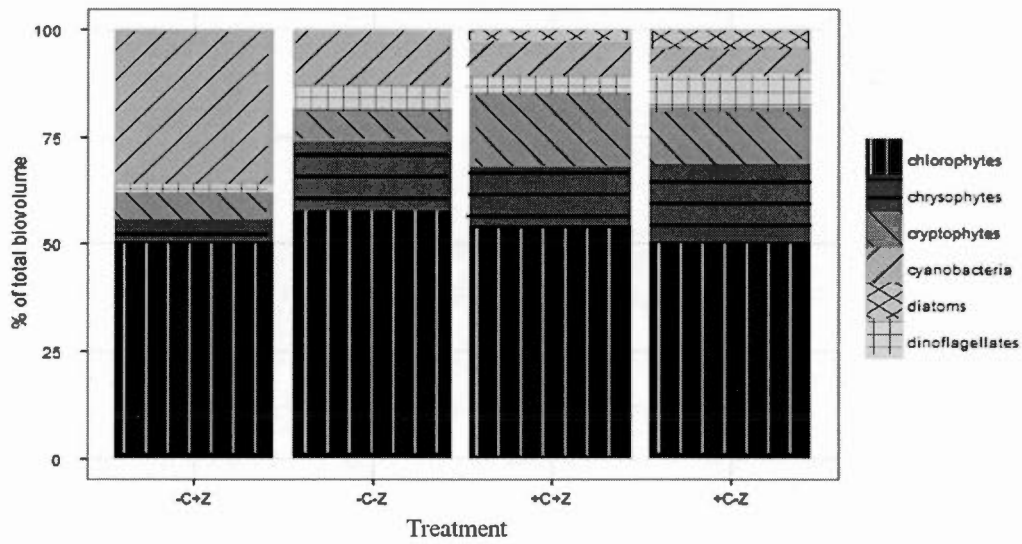


Figure B.3 Relative biovolume (mm^3/L) of each of the major phytoplankton groups at 4.5m based on microscope counts in the four treatments averaged through time.

APPENDIX C

PHYTOPLANKTON COMMUNITIES RESPONSES: MEANS, STANDARDS ERRORS AND P-VALUES

C.1 FLUOROPROBE CONCENTRATIONS

Tableau C.1 Mean concentration ($\mu\text{g/L}$) (\pm Standard Error) of phytoplankton Fluoroprobe concentration across the water column (a); the size of the peak (DCM_{size})(b); and the depth of the peak ($\text{DCM}_{\text{depth}}$) (c) ; significant p -values associated to ANOVA analyses are shown.

Biovolumes	-CO ₂		+CO ₂		CO ₂	zoo	Interaction
	+zoo	-zoo	+zoo	-zoo			
a) mean	Mean ($\mu\text{g/L}$) \pm SE					p -value	
GREENS	1.4 \pm 0.12	2.1 \pm 0.2	1.4 \pm 0.1	1.7 \pm 0.1	NS	0.002	NS
CYANOS	0.7 \pm 0.04	0.5 \pm 0.01	0.4 \pm 0.03	0.3 \pm 0.02	<0.0001	0.0002	0.01
BROWNS	1.6 \pm 10.0	3.7 \pm 0.9	1.8 \pm 0.1	3.1 \pm 0.2	NS	<0.0001	0.03
CRYPTOS	0.1 \pm 10.2	0.03 \pm 0.00	0.1 \pm 0.0	0.02 \pm 0.002	<0.0001	<0.0001	0.006
TOTAL	3.8 \pm 0.3	6.4 \pm 0.3	3.7 \pm 0.1	5.1 \pm 0.3	0.02	<0.0001	NS
b) DCM_{size}	Mean ($\mu\text{g/L}$) \pm SE					p -value	
GREENS	2.5 \pm 0.1	3.1 \pm 0.2	2.6 \pm 0.2	2.8 \pm 0.2	NS	NS	NS
CYANOS	1.4 \pm 0.1	1.2 \pm 0.1	1.0 \pm 0.1	1.0 \pm 0.10	0.01	NS	NS
BROWNS	3.3 \pm 0.4	6.5 \pm 0.6	4.0 \pm 0.3	6.2 \pm 0.3	NS	<0.0001	NS
CRYPTOS	0.5 \pm 0.02	0.3 \pm 0.03	0.4 \pm 0.02	0.2 \pm 0.01	<0.0001	<0.0001	NS
TOTAL	5.9 \pm 0.4	10.0 \pm 0.8	6.4 \pm 0.4	9.3 \pm 0.8	NS	<0.0001	NS
c) DCM_{depth}	Depth (m) \pm SE					p -value	
GREENS	3.2 \pm 0.2	3.8 \pm 0.4	23.0 \pm 0.2	4.3 \pm 0.5	NS	0.02	NS
CYANOS	5.8 \pm 0.	6.8 \pm 0.04	6.5 \pm 0.2	6.9 \pm 0.1	NS	0.04	NS
BROWNS	4.9 \pm 0.1	5.6 \pm 0.1	4.8 \pm 0.2	5.6 \pm 0.3	NS	0.004	NS
CRYPTOS	2.5 \pm 0.2	1.2 \pm 0.1	2.5 \pm 0.3	2.7 \pm 0.5	0.03	NS	0.03
TOTAL	5.4 \pm 0.1	5.8 \pm 0.1	5.2 \pm 0.1	5.7 \pm 0.2	NS	0.01	NS

C.2 MICROSCOPE COUNTS

Tableau C.2 Mean phytoplankton biovolume (mm^3/L) (\pm Standard Error) based on microscope counts; significant p -values associated to ANOVA analyses are shown.

biovolume	mean (mm^3/L) \pm SE				p -value		
	-CO ₂		+CO ₂		CO ₂	zoo	Interaction
	+zoo	-zoo	+zoo	-zoo			
chlorophytes	0.53 \pm 0.06	0.77 \pm 0.08	0.77 \pm 0.08	0.4 \pm 0.04	0.0003	0.02	NS
chrysophytes	0.06 \pm 0.02	0.22 \pm 0.04	0.22 \pm 0.04	0.14 \pm 0.03	NS	0.002	NS
cryptophytes	0.07 \pm 0.02	0.10 \pm 0.01	0.1 \pm 0.01	0.11 \pm 0.01	NS	NS	NS
euglenoides	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	NS	NS	NS
dinoflagellates	0.02 \pm 0.01	0.07 \pm 0.01	0.07 \pm 0.01	0.06 \pm 0.01	NS	0.0001	NS
cyanobacteria	0.38 \pm 0.06	0.17 \pm 0.03	0.17 \pm 0.03	0.05 \pm 0.01	<0.0001	0.01	0.01
diatoms	0.00 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00	0.03 \pm 0.00	0.0009	NS	NS
TOTAL	1.07 \pm 0.1	1.4 \pm 0.13	1.4 \pm 0.13	0.82 \pm 0.08	0.0001	0.02	NS

C.3 PRIMARY PRODUCTIVITY PROXY

Tableau C.3 Mean maximal electron transport rate (ETR_{max}) (relative value) (\pm Standard Error) based on PhytoPAM estimates; significant p -values associated to ANOVA analyses are shown.

a) water column rates	mean (relative value) \pm SE				p -value		
	$-CO_2$		$+CO_2$		CO_2	zoo	Inter- action
	+zoo	-zoo	+zoo	-zoo			
Greens	66.4 \pm 12.6	81.3 \pm 4.6	89.9 \pm 3.2	83.8 \pm 3.86	NS	NS	NS
Blues	82.1 \pm 7.5	45.6 \pm 5.8	75.8 \pm 10.9	61.5 \pm 1.9	NS	0.004	NS
Browns	60.5 \pm 1.1	51.4 \pm 4.2	67.6 \pm 3.6	69.0 \pm 3.6	0.003	NS	NS
Total	200.1 \pm 17.1	170.7 \pm 6.2	228 \pm 10.0	197.9 \pm 2.5	0.02	0.01	NS
b) DCM rates							
Greens	82.9 \pm 10.8	87.5 \pm 6.7	95.8 \pm 19.8	65.4 \pm 14.8	NS	NS	NS
Blues	77.4 \pm 8.4	42.9 \pm 8.3	71.5 \pm 8.9	58.1 \pm 3.8	NS	0.008	NS
Browns	53.4 \pm 1.6	46.3 \pm 3.5	63.9 \pm 2.0	63.7 \pm 6.1	0.003	NS	NS
Total	206.4 \pm 16.6	167.4 \pm 15.6	224.6 \pm 22.2	179.2 \pm 18.6	NS	0.04	NS

RÉFÉRENCES

- Aberle, N., Schulz, K.G., Stuhr, A., Malzahn, A., Ludwig, A. et Riebesell, U. (2013). High tolerance of microzooplankton to ocean acidification in an Arctic coastal plankton community. *Biogeosciences*, 10(3), 1471-1481.
- Arndt, H. (1993). Rotifers as predators on components of the microbial web (bacteria, heterotrophic flagellates, ciliates)—a review. *Hydrobiologia*, 255(1), 231-246.
- Arvola, L., Salonen, K., Kankaala, P. et Lehtovaara, A. (1992). Vertical distributions of bacteria and algae in a steeply stratified humic lake under high grazing pressure from *Daphnia longispina*. Dans *Dissolved Organic Matter in Lacustrine Ecosystems* (p. 253-269) : Springer.
- Badger, M.R., Andrews, T.J., Whitney, S., Ludwig, M., Yellowlees, D.C., Leggat, W. et Price, G.D. (1998). The diversity and coevolution of Rubisco, plastids, pyrenoids, and chloroplast-based CO₂-concentrating mechanisms in algae. *Canadian Journal of Botany*, 76(6), 1052-1071.
- Beardall, J., Stojkovic, S. et Larsen, S. (2009). Living in a high CO₂ world: impacts of global climate change on marine phytoplankton. *Plant Ecology & Diversity*, 2(2), 191-205.
- Bennett, E.M., Carpenter, S.R. et Caraco, N.F. (2001). Human impact on erodable phosphorus and eutrophication: a global perspective increasing accumulation of phosphorus in soil threatens rivers, lakes, and coastal oceans with eutrophication. *BioScience*, 51(3), 227-234.
- Bird, D. et Kalff, J. (1989). Phagotrophic sustenance of a metalimnetic phytoplankton peak. *Limnology and Oceanography*, 34(1), 155-162.

- Burkhardt, S. et Riebesell, U. (1997). CO₂ availability affects elemental composition (C: N: P) of the marine diatom *Skeletonema costatum*. *Marine Ecology Progress Series*, 155, 67-76.
- Burkhardt, S., Zondervan, I. et Riebesell, U. (1999). Effect of CO₂ concentration on C: N: P ratio in marine phytoplankton: A species comparison. *Limnology and Oceanography*, 44(3), 683-690.
- Camacho, A. (2006). On the occurrence and ecological features of deep chlorophyll maxima (DCM) in Spanish stratified lakes. *Limnetica*, 25(1), 453-478.
- Carney, H.J., Richerson, P.J., Goldman, C.R. et Richards, R.C. (1988). Seasonal phytoplankton demographic processes and experiments on interspecific competition. *Ecology*, 69(3), 664-678.
- Christensen, D.L., Carpenter, S.R. et Cottingham, K.L. (1995). Predicting chlorophyll vertical distribution in response to epilimnetic nutrient enrichment in small stratified lakes. *Journal of Plankton Research*, 17(7), 1461-1477.
- Ciais, P., Sabine, C., Bala, G., Bopp, L., Brovkin, V., Canadell, J., Chhabra, A., DeFries, R., Galloway, J. et Heimann, M. (2013). Carbon and other biogeochemical cycles. Dans Stocker, T. F., Qin, D., Plattner, G.-K., Tignor, M., Allen, S. K., Boschung, J., Nauels, A., Xia, Y., Bex, V. et Midgley, P. M. (dir.), *Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* (p. 465-570). Cambridge, UK and New York, NY : Cambridge University Press.
- Clegg, M.R., Maberly, S.C. et Jones, R.I. (2007). Behavioral response as a predictor of seasonal depth distribution and vertical niche separation in freshwater phytoplanktonic flagellates. *Limnology and Oceanography*, 52(1), 441-455.
- Cole, J.J., Caraco, N.F., Kling, G.W. et Kratz, T.K. (1994). Carbon dioxide supersaturation in the surface waters of lakes. *Science*, 265(5178), 1568-1569.

- Cole, P.C., Luecke, C., Wurtsbaugh, W.A. et Burkart, G. (2002). Growth and survival of *Daphnia* in epilimnetic and metalimnetic water from oligotrophic lakes: the effects of food and temperature. *Freshwater Biology*, 47(11), 2113-2122.
- Coon, T.G., Lopez, M.M., Richerson, P.J., Powell, T.M. et Goldman, C.R. (1987). Summer dynamics of the deep chlorophyll maximum in Lake Tahoe. *Journal of Plankton Research*, 9(2), 327-344.
- Cripps, G., Lindeque, P. et Flynn, K.J. (2014). Have we been underestimating the effects of ocean acidification in zooplankton? *Global Change Biology*, 20(11), 3377-3385.
- Cullen, J.J. (1982). The deep chlorophyll maximum: comparing vertical profiles of chlorophyll a. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 39(5), 791-803.
- Czerny, J., Barcelos e Ramos, J. et Riebesell, U. (2009). Influence of elevated CO₂ concentrations on cell division and nitrogen fixation rates in the bloom-forming cyanobacterium *Nodularia spumigena*. *Biogeosciences*, 6(9), 1865-1875.
- Del Giorgio, P.A., Cole, J.J. et Cimleris, A. (1997). Respiration rates in bacteria exceed phytoplankton production in unproductive aquatic systems. *Nature*, 385(6612), 148-151.
- DeMott, W.R. (1986). The role of taste in food selection by freshwater zooplankton. *Oecologia*, 69(3), 334-340.
- Descy, J.-P., Tarbe, A.-L., Stenuite, S., Pirlot, S., Stimart, J., Vanderheyden, J., Leporcq, B., Stoyneva, M.P., Kimirei, I. et Sinyinza, D. (2010). Drivers of phytoplankton diversity in Lake Tanganyika. *Hydrobiologia*, 653(1), 29-44.
- Downing, J., Prairie, Y., Cole, J., Duarte, C., Tranvik, L., Striegl, R., McDowell, W., Kortelainen, P., Caraco, N. et Melack, J. (2006). The global abundance and size distribution of lakes, ponds, and impoundments. *Limnology and Oceanography*, 51(5), 2388-2397.

- Elser, J.J., Bracken, M.E., Cleland, E.E., Gruner, D.S., Harpole, W.S., Hillebrand, H., Ngai, J.T., Seabloom, E.W., Shurin, J.B. et Smith, J.E. (2007). Global analysis of nitrogen and phosphorus limitation of primary producers in freshwater, marine and terrestrial ecosystems. *Ecology letters*, 10(12), 1135-1142.
- Evans, C., Monteith, D. et Cooper, D. (2005). Long-term increases in surface water dissolved organic carbon: observations, possible causes and environmental impacts. *Environmental Pollution*, 137(1), 55-71.
- Fahnenstiel, G.L. et Glime, J. (1983). Subsurface chlorophyll maximum and associated *Cyclotella* pulse in Lake Superior. *Internationale Revue der Gesamten Hydrobiologie und Hydrographie*, 68(5), 605-616.
- Fee, E.J. (1976). The vertical and seasonal distribution of chlorophyll in lakes of the Experimental Lakes Area, northwestern Ontario: Implications for primary production estimates. *Limnology and Oceanography*, 21(6), 762-783.
- Feng, Y., Hare, C.E., Leblanc, K., Rose, J.M., Zhang, Y., DiTullio, G.R., Lee, P.A., Wilhelm, S.W., Rowe, J.M. et Sun, J. (2009). Effects of increased pCO₂ and temperature on the North Atlantic spring bloom. I. The phytoplankton community and biogeochemical response. *Marine Ecology Progress Series*, 388, 13-25.
- Fennel, K. et Boss, E. (2003). Subsurface maxima of phytoplankton and chlorophyll: Steady-state solutions from a simple model. *Limnology and Oceanography*, 48(4), 1521-1534.
- Finkel, Z.V., Beardall, J., Flynn, K.J., Quigg, A., Rees, T.A.V. et Raven, J.A. (2009). Phytoplankton in a changing world: cell size and elemental stoichiometry. *Journal of plankton research*, fbp098.
- Finlay, B., Maberly, S. et Esteban, G. (1996). Spectacular abundance of ciliates in anoxic pond water: contribution of symbiont photosynthesis to host respiratory oxygen requirements. *FEMS Microbiology Ecology*, 20(4), 229-235.

- Finlay, B.J., Clarke, K.J., Vicente, E. et Miracle, M.R. (1991). Anaerobic ciliates from a sulphide-rich solution lake in Spain. *European journal of protistology*, 27(2), 148-159.
- Fowler, D., Coyle, M., Skiba, U., Sutton, M.A., Cape, J.N., Reis, S., Sheppard, L.J., Jenkins, A., Grizzetti, B. et Galloway, J.N. (2013). The global nitrogen cycle in the twenty-first century. *Phil. Trans. R. Soc. B*, 368(1621), 20130164.
- Gálvez, J., Niell, F. et Lucena, J. (1988). Description and mechanism of formation of a deep chlorophyll maximum due to *Ceratium hirundinella* (OF Müller) Bergh. *Archiv für Hydrobiologie*, 112(1), 143-155.
- Gasol, J.M., Guerrero, R. et Pedrós-Alió, C. (1992). Spatial and temporal dynamics of a metalimnetic *Cryptomonas* peak. *Journal of Plankton Research*, 14(11), 1565-1579.
- Gauthier, J., Prairie, Y.T. et Beisner, B.E. (2014). Thermocline deepening and mixing alter zooplankton phenology, biomass and body size in a whole-lake experiment. *Freshwater biology*, 59(5), 998-1011.
- Gervais, F., Siedel, U., Heilmann, B., Weithoff, G., Heisig-Gunkel, G. et Nicklisch, A. (2003). Small-scale vertical distribution of phytoplankton, nutrients and sulphide below the oxycline of a mesotrophic lake. *Journal of Plankton Research*, 25(3), 273-278.
- Graneli, W. (2012). Brownification of lakes. Dans *Encyclopedia of Lakes and Reservoirs* (p. 117-119) : Springer.
- Griesbach, S.J. et Peters, R.H. (1991). The effects of analytical variations on estimates of phosphorus concentration in surface waters. *Lake and Reservoir Management*, 7(1), 97-106.
- Grimm, N.B., Chapin, F.S., Bierwagen, B., Gonzalez, P., Groffman, P.M., Luo, Y., Melton, F., Nadelhoffer, K., Pairis, A. et Raymond, P.A. (2013). The impacts

of climate change on ecosystem structure and function. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 11(9), 474-482.

Haffner, G. et McNeely, R. (1989). Community structure in epilimnetic and metalimnetic phytoplankton assemblages. *Hydrobiologia*, 182(1), 59-71.

Hardin, G. (1960). The competitive exclusion principle. *science*, 131(3409), 1292-1297.

Harpole, W.S., Ngai, J.T., Cleland, E.E., Seabloom, E.W., Borer, E.T., Bracken, M.E., Elser, J.J., Gruner, D.S., Hillebrand, H. et Shurin, J.B. (2011). Nutrient co-limitation of primary producer communities. *Ecology Letters*, 14(9), 852-862.

Hart, J. (2015). *Effects of Elevated Carbon Dioxide on Freshwater Plankton Community Dynamics*. Université du Québec à Montréal, Montréal.

Hartmann, D., Klein Tank, A., Rustucci, M., Alexander, L., Bronnimann, S., Charabi, Y., Dentener, F., Dlugokencky, E., Easterling, D. et Kaplan, A. (2013). Observations: Atmosphere and Surface in: Climate Change 2013: The Physical Science Basis. *Contribution of working group I to the fifth assessment report of the intergovernmental panel on climate change*. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA.

Hasler, C.T., Butman, D., Jeffrey, J.D. et Suski, C.D. (2016). Freshwater biota and rising pCO₂? *Ecol Lett*, 19(1), 98-108.

Heaney, S. et Eppley, R. (1981). Light, temperature and nitrogen as interacting factors affecting diel vertical migrations of dinoflagellates in culture. *Journal of Plankton Research*, 3(2), 331-344.

Hillebrand, H., Dürselen, C.D., Kirschtel, D., Pollinger, U. et Zohary, T. (1999). Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. *Journal of phycology*, 35(2), 403-424.

- Holland, D.P., Pantorno, A., Orr, P.T., Stojkovic, S. et Beardall, J. (2012). The impacts of a high CO₂ environment on a bicarbonate user: the cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii*. *Water research*, 46(5), 1430-1437.
- Hope, D., Kratz, T.K. et Riera, J.L. (1996). Relationship between pCO₂ and dissolved organic carbon in northern Wisconsin lakes. *Journal of environmental quality*, 25(6), 1442-1445.
- Hughes, R. (1980). Optimal foraging theory in the marine context. *Oceanogr Mar Biol Annu Rev*, 18, 423-481.
- Huisman, J., Thi, N.N.P., Karl, D.M. et Sommeijer, B. (2006). Reduced mixing generates oscillations and chaos in the oceanic deep chlorophyll maximum. *Nature*, 439(7074), 322-325.
- Hutchinson, G.E. (1961). The paradox of the plankton. *The American Naturalist*, 95(882), 137-145.
- Jackson, L.J., Stockner, J.G. et Harrison, P.J. (1990). Contribution of *Rhizosolenia* *eriensis* and *Cyclotella* spp. to the deep chlorophyll maximum of Sproat Lake, British Columbia, Canada. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 47(1), 128-135.
- Jansson, M., Bergström, A.-K., Blomqvist, P. et Drakare, S. (2000). Allochthonous organic carbon and phytoplankton/bacterioplankton production relationships in lakes. *Ecology*, 81(11), 3250-3255.
- Jansson, M., Karlsson, J. et Jonsson, A. (2012). Carbon dioxide supersaturation promotes primary production in lakes. *Ecology Letters*, 15(6), 527-532.
- Jones Jr, J.B. et Mulholland, P.J. (1998). Carbon dioxide variation in a hardwood forest stream: an integrative measure of whole catchment soil respiration. *Ecosystems*, 1(2), 183-196.

- Jonsson, A., Karlsson, J. et Jansson, M. (2003). Sources of carbon dioxide supersaturation in clearwater and humic lakes in northern Sweden. *Ecosystems*, 6(3), 224-235.
- Kalff, J. (2002). *Limnology: inland water ecosystems*. New-York : Prentice Hall.
- Kaplan, A. et Reinhold, L. (1999). CO₂ concentrating mechanisms in photosynthetic microorganisms. *Annual review of plant biology*, 50(1), 539-570.
- Kim, J.-M., Lee, K., Shin, K., Kang, J.-H., Lee, H.-W., Kim, M., Jang, P.-G. et Jang, M.-C. (2006). The effect of seawater CO₂ concentration on growth of a natural phytoplankton assemblage in a controlled mesocosm experiment. *Limnology and oceanography*, 51(4), 1629-1636.
- Klausmeier, C.A. et Litchman, E. (2001). Algal games: The vertical distribution of phytoplankton in poorly mixed water columns. *Limnology and Oceanography*, 46(8), 1998-2007.
- Kling, G.W., Kipphut, G.W. et Miller, M.C. (1991). Arctic lakes and streams as gas conduits to the atmosphere: Implications for tundra carbon budgets. *Science*, 251(4991), 298-301.
- Körner, S. et Nicklisch, A. (2002). Allelopathic growth inhibition of selected phytoplankton species by submerged macrophytes1. *Journal of Phycology*, 38(5), 862-871.
- Laird, R.A. et Schamp, B.S. (2008). Does local competition increase the coexistence of species in intransitive networks. *Ecology*, 89(1), 237-247.
- Laybourn-Parry, J. (2002). Survival mechanisms in Antarctic lakes. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 357(1423), 863-869.
- Lehman, J.T. (1976). The filter-feeder as an optimal forager, and the predicted shapes of feeding curves. *Limnol. Oceanogr.*, 21(50), 501-516.

- Leibold, M.A. (1990). Resources and predators can affect the vertical distributions of zooplankton. *Limnology and Oceanography*, 35(4), 938-944.
- Lennon, J.T., Hamilton, S.K., Muscarella, M.E., Grandy, A.S., Wickings, K. et Jones, S.E. (2013). A source of terrestrial organic carbon to investigate the browning of aquatic ecosystems. *PLoS One*, 8(10), 1–13.
- Libes, S. (2011). *Introduction to marine biogeochemistry*. : Academic Press.
- Liebig, J.F., Playfair, L.P. et Webster, J.W. (1841). *Organic chemistry in its applications to agriculture and physiology*. : J. Owen.
- Lischka, S., Bach, L.T., Schulz, K.G. et Riebesell, U. (2015). Micro- and mesozooplankton community response to increasing CO₂ levels in the Baltic Sea: insights from a large-scale mesocosm experiment. *Biogeosciences Discussions*, 12(23), 20025-20070. doi: 10.5194/bgd-12-20025-2015
- Long, S. (1991). Modification of the response of photosynthetic productivity to rising temperature by atmospheric CO₂ concentrations: has its importance been underestimated? *Plant, Cell and Environment*, 14(8), 729-739.
- Longhurst, A.R. (1976). Interactions between zooplankton and phytoplankton profiles in the eastern tropical Pacific Ocean. *Deep-sea research* 23(8), 729-754.
- Low-Decarie, E., Bell, G. et Fussmann, G.F. (2015). CO₂ alters community composition and response to nutrient enrichment of freshwater phytoplankton. *Oecologia*, 177(3), 875-883.
- Low-Decarie, E., Fussmann, G.F. et Bell, G. (2014). Aquatic primary production in a high-CO₂ world. *Trends Ecol Evol*, 29(4), 223-232.
- Low-Décarie, E., Fussmann, G.F. et Bell, G. (2011). The effect of elevated CO₂ on growth and competition in experimental phytoplankton communities. *Global Change Biology*, 17(8), 2525-2535.

- Maberly, S.C., Ball, L.A., Raven, J.A. et Sültemeyer, D. (2009). Inorganic carbon acquisition by chrysophytes. *Journal of Phycology*, 45(5), 1052-1061.
- Maberly, S.C., Barker, P.A., Stott, A.W. et De Ville, M.M. (2013). Catchment productivity controls CO₂ emissions from lakes. *Nature Climate Change*, 3(4), 391-394.
- Marcé, R., Obrador, B., Morguí, J.-A., Lluís Riera, J., López, P. et Armengol, J. (2015). Carbonate weathering as a driver of CO₂ supersaturation in lakes. *Nature Geoscience*, 8(2), 107-111.
- Masson, S., Pinel-Alloul, B. et Dutilleul, P. (2004). Spatial heterogeneity of zooplankton biomass and size structure in southern Quebec lakes: variation among lakes and within lake among epi-, meta-and hypolimnion strata. *Journal of Plankton Research*, 26(12), 1441-1458.
- McCauley, E. (1984). The estimation of the abundance and biomass of zooplankton in samples. Dans J.A., D. et F.H., R. (dir.), *A manual on methods for the assessment of secondary productivity in fresh waters* (p. 228-265). Oxford : Blackwell Scientific Publications.
- Miracle, M., Vicente, E. et Pedrós-Alió, C. (1992). Biological studies of Spanish meromictic and stratified karstic lakes. *Limnetica*, 8, 59-77.
- Miyazaki, T., Tainaka, K.-i., Togashi, T., Suzuki, T. et Yoshimura, J. (2006). Spatial coexistence of phytoplankton species in ecological timescale. *Population Ecology*, 48(2), 107-112.
- Moll, R. et Stoermer, E. (1982). Hypothesis relating trophic status and subsurface chlorophyll maxima of lakes. *Arch. Hydrobiol*, 94, 425-440.
- Moll, R.A., Brache, M.Z. et Peterson, T.P. (1984). Phytoplankton dynamics within the subsurface chlorophyll maximum of Lake Michigan. *Journal of plankton research*, 6(5), 751-766.

- Niehoff, B., Knüppel, N., Daase, M., Czerny, J. et Boxhammer, T. (2013). Mesozooplankton community development at elevated CO₂ concentrations: results from a mesocosm experiment in an Arctic fjord. *Biogeosciences* 10(3), 1391-1406.
- Ouellet Jobin, V. et Beisner, B.E. (2014). Deep chlorophyll maxima, spatial overlap and diversity in phytoplankton exposed to experimentally altered thermal stratification. *Journal of Plankton Research*, 36(4), 933-942.
- Patton, C.J. et Kryskalla, J.R. (2003). *Methods of analysis by the US Geological Survey National Water Quality Laboratory: evaluation of alkaline persulfate digestion as an alternative to Kjeldahl digestion for determination of total and dissolved nitrogen and phosphorus in water*. (Water-Resources Investigations Report)(2003-4174). [U.S. Geological Survey].
- Pick, F., Nalewajko, C. et Lean, D. (1984). The origin of a metalimnetic chrysophyte peak. *Limnology and Oceanography*, 29(1), 125-134.
- Pilati, A. et Wurtsbaugh, W.A. (2003). Importance of zooplankton for the persistence of a deep chlorophyll layer: a limnocorral experiment. *Limnology and Oceanography*, 48(1), 249-260.
- Pinel-Alloul, B. (1995). Spatial heterogeneity as a multiscale characteristic of zooplankton community. Dans *Space partition within aquatic ecosystems* (p. 17-42) : Springer Netherlands.
- Prairie, Y.T., Bird, D.F. et Cole, J.J. (2002). The summer metabolic balance in the epilimnion of southeastern Quebec lakes. *Limnology and Oceanography*, 47(1), 316-321.
- Price, G.D. (2011). Inorganic carbon transporters of the cyanobacterial CO₂ concentrating mechanism. *Photosynthesis Research*, 109(1-3), 47-57.
- Qiu, B. et Gao, K. (2002). Effects of co₂ enrichment on the bloom-forming cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* (cyanophyceae): Physiological

responses and relationships with the availability of dissolved inorganic carbon. *Journal of Phycology*, 38(4), 721-729.

Reynolds, C., Tundisi, J. et Hino, K. (1983). Observations on a metalimnetic *Lyngbya* population in a stably stratified tropical lake (Lagoa Carioca, Eastern Brasil). *Archiv fur hydrobiology*, 97, 7-17.

Riebesell, U. (2004). Effects of CO₂ enrichment on marine phytoplankton. *Journal of Oceanography*, 60(4), 719-729.

Riebesell, U., Schulz, K.G., Bellerby, R., Botros, M., Fritsche, P., Meyerhöfer, M., Neill, C., Nondal, G., Oschlies, A. et Wohlers, J. (2007). Enhanced biological carbon consumption in a high CO₂ ocean. *Nature*, 450(7169), 545-548.

Riebesell, U., Zondervan, I., Rost, B., Tortell, P.D., Zeebe, R.E. et Morel, F.M. (2000). Reduced calcification of marine plankton in response to increased atmospheric CO₂. *Nature*, 407(6802), 364-367.

Rossoll, D., Bermúdez, R., Hauss, H., Schulz, K.G., Riebesell, U., Sommer, U. et Winder, M. (2012). Ocean acidification-induced food quality deterioration constrains trophic transfer. *PLoS one*, 7(4), e34737.

Sabine, C.L., Feely, R.A., Gruber, N., Key, R.M., Lee, K., Bullister, J.L., Wanninkhof, R., Wong, C., Wallace, D.W. et Tilbrook, B. (2004). The oceanic sink for anthropogenic CO₂. *Science*, 305(5682), 367-371.

Salonen, K., Jones, R. et Arvola, L. (1984). Hypolimnetic phosphorus retrieval by diel vertical migrations of lake phytoplankton. *Freshwater Biology*, 14(4), 431-438.

Sarnelle, O. (1999). Zooplankton effects on vertical particulate flux: Testable models and experimental results. *Limnology and Oceanography*, 44(2), 357-370.

Saros, J.E., Interlandi, S.J., Doyle, S., Michel, T.J. et Williamson, C.E. (2005). Are the Deep Chlorophyll Maxima in Alpine Lakes Primarily Induced by Nutrient

Availability, not UV Avoidance? *Arctic, Antarctic, and Alpine Research*, 37(4), 557-563.

- Sawatzky, C.L. (2006). The spatial and temporal dynamics of deep chlorophyll layers in high-mountain lakes: effects of nutrients, grazing and herbivore nutrient recycling as growth determinants. *Journal of Plankton Research*, 28(1), 65-86.
- Schippers, P., Lüring, M. et Scheffer, M. (2004). Increase of atmospheric CO₂ promotes phytoplankton productivity. *Ecology letters*, 7(6), 446-451.
- Smayda, T.J. (1997). Harmful algal blooms: their ecophysiology and general relevance to phytoplankton blooms in the sea. *Limnology and oceanography*, 42(5part2), 1137-1153.
- Smith, R.E. et Kalff, J. (1983). Competition for phosphorus among co-occurring freshwater phytoplankton. *Limnol. Oceanogr*, 28(3), 448-464.
- Sobek, S., Algesten, G., BERGSTRÖM, A.K., Jansson, M. et Tranvik, L.J. (2003). The catchment and climate regulation of pCO₂ in boreal lakes. *Global Change Biology*, 9(4), 630-641.
- Sobrinho, C., Neale, P., Phillips-Kress, J., Moeller, R. et Porter, J. (2009). Elevated CO₂ increases sensitivity to ultraviolet radiation in lacustrine phytoplankton assemblages. *Limnology and Oceanography*, 54(6), 2448.
- Sobrinho, C., Ward, M.L. et Neale, P.J. (2008). Acclimation to elevated carbon dioxide and ultraviolet radiation in the diatom *Thalassiosira pseudonana*: Effects on growth, photosynthesis, and spectral sensitivity of photoinhibition. *Limnology and Oceanography*, 53(2), 494-505.
- Spijkerman, E. (2010). High photosynthetic rates under a colimitation for inorganic phosphorus and carbon dioxide. *Journal of phycology*, 46(4), 658-664.

- Sterner, R.W. (1989). The Role of Grazers in Phytoplankton Succession. Dans *Plankton Ecology: Succession in Plankton Communities* (p. 107-170). Berlin, Heidelberg : Springer
- Sterner, R.W. et Elser, J.J. (2002). *Ecological stoichiometry: the biology of elements from molecules to the biosphere*. Princeton : Princeton University Press.
- Suffrian, K., Simonelli, P., Nejstgaard, J., Putzeys, S., Carotenuto, Y. et Antia, A. (2008). Microzooplankton grazing and phytoplankton growth in marine mesocosms with increased CO₂ levels. *Biogeosciences* 5, 1145-1156.
- Tittel, J., Bissinger, V., Gaedke, U. et Kamjunke, N. (2005). Inorganic carbon limitation and mixotrophic growth in Chlamydomonas from an acidic mining lake. *Protist*, 156(1), 63-75.
- Tittel, J., Bissinger, V., Zippel, B., Gaedke, U., Bell, E., Lorke, A. et Kamjunke, N. (2003). Mixotrophs combine resource use to outcompete specialists: implications for aquatic food webs. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(22), 12776-12781.
- Tortell, P.D., DiTullio, G.R., Sigman, D.M. et Morel, F.M. (2002). CO₂ effects on taxonomic composition and nutrient utilization in an Equatorial Pacific phytoplankton assemblage. *Marine Ecology Progress Series*, 236, 37-43.
- Tortell, P.D., Payne, C.D., Li, Y., Trimborn, S., Rost, B., Smith, W.O., Riesselman, C., Dunbar, R.B., Sedwick, P. et DiTullio, G.R. (2008). CO₂ sensitivity of Southern Ocean phytoplankton. *Geophysical Research Letters*, 35(4), L04605.
- Urabe, J., Togari, J. et Elser, J.J. (2003). Stoichiometric impacts of increased carbon dioxide on a planktonic herbivore. *Global Change Biology*, 9(6), 818-825.
- Van de Waal, D.B., Verschoor, A.M., Verspagen, J.M., van Donk, E. et Huisman, J. (2010). Climate-driven changes in the ecological stoichiometry of aquatic ecosystems. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 8(3), 145-152.

- Verschoor, A.M., Van Dijk, M.A., Huisman, J. et Van Donk, E. (2013). Elevated CO₂ concentrations affect the elemental stoichiometry and species composition of an experimental phytoplankton community. *Freshwater Biology*, 58(3), 597-611.
- Verspagen, J.M., Van de Waal, D.B., Finke, J.F., Visser, P.M. et Huisman, J. (2014). Contrasting effects of rising CO₂ on primary production and ecological stoichiometry at different nutrient levels. *Ecology letters*, 17(8), 951-960.
- Vincent, W.F. (1980). The physiological ecology of a *Scenedesmus* population in the hypolimnion of a hypertrophic pond. II. Heterotrophy. *British Phycological Journal*, 15(1), 35-41.
- Wetzel, R. (2001). *Limnology: Lake and River Ecosystems*,. San Diego, CA : Academic Press.
- Wollmann, K., Deneke, R., Nixdorf, B. et Packroff, G. (2000). Dynamics of planktonic food webs in three mining lakes across a pH gradient (pH 2–4). *Hydrobiologia*, 433, 3-14.
- Yoshimura, T., Nishioka, J., Suzuki, K., Hattori, H., Kiyosawa, H. et Watanabe, Y. (2009). Impacts of elevated CO₂ on phytoplankton community composition and organic carbon dynamics in nutrient-depleted Okhotsk Sea surface waters. *Biogeosciences Discussions*, 6(2), 4143-4163.
- Yoshiyama, K., Mellard, J.P., Litchman, E. et Klausmeier, C.A. (2009). Phytoplankton competition for nutrients and light in a stratified water column. *The American Naturalist*, 174(2), 190-203.
- Zhang, X., Zwiers, F.W., Hegerl, G.C., Lambert, F.H., Gillett, N.P., Solomon, S., Stott, P.A. et Nozawa, T. (2007). Detection of human influence on twentieth-century precipitation trends. *Nature*, 448(7152), 461-465.